

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

LA VACCINATION ANTICLAVELEUSE PAR VIRUS SENSIBILISÉ APRÈS DIX ANNÉES D'APPLICATION

par J. BRIDRÉ et A. BOQUET.

Depuis 1912, époque à laquelle nous avons fait connaître notre méthode d'immunisation active des ovins contre la clavelée, méthode basée sur le principe des « virus sensibilisés » de Besredka, la « vaccination anticlaveleuse » a été largement appliquée. En dix ans, le nombre des ovins vaccinés atteint : en Algérie, plus de 8.000.000 ; en France, 500.000 ; au Maroc et en Tunisie, 200.000. La Grèce, l'Espagne, l'Italie emploient aujourd'hui le vaccin anticlaveleux sensibilisé.

Dès 1913, les moutons algériens « vaccinés » étaient admis en France au même titre que les moutons « clavelisés ». Actuellement, la vaccination anticlaveleuse est la seule méthode d'immunisation autorisée en Algérie, en Tunisie et au Maroc pour les ovins destinés à être importés en France. Employée, d'autre part, dans l'Afrique du Nord, dans le but de circonscrire les foyers de clavelée signalés, elle est encore pratiquée, par simple précaution, sur des troupeaux formés de moutons de provenances diverses et toujours suspectes. En France même, les travaux de Laubion sur une épizootie de clavelée dans l'Ariège, de Martel sur la clavelée dans le camp retranché de Paris, au début de la guerre, de Canaby sur divers foyers

de clavelée dans les Bouches-du-Rhône, ont montré comment la mise en pratique de la vaccination anticlaveleuse amène l'extinction rapide des foyers claveleux.

Cette vaste application de la méthode, au cours des dix années écoulées, n'a pas été sans fournir quelques enseignements d'ordre pratique. Elle a permis, d'abord, de vérifier les résultats de nos expériences initiales, et ceux-ci, tant au point de vue de l'efficacité que de l'innocuité de la vaccination, ont été pleinement confirmés : l'immunité, acquise quarante-huit heures après l'injection vaccinale, se maintient pendant un an au minimum (de nouvelles expériences inédites faites en collaboration avec M. Donatien montrent que la durée de l'immunité est supérieure à un an ; ses limites ne sont pas établies encore). Il n'a jamais été constaté de lésions claveleuses secondaires sur les moutons vaccinés, de même que jamais il n'a été signalé de contamination de troupeaux sains par des moutons vaccinés. La réaction locale qui résulte le plus souvent de l'injection vaccinale n'a pas de tendance à s'étendre et ne crée jamais de lésion contagieuse. Ces simples constatations font ressortir les différences profondes qui séparent la nouvelle méthode d'immunisation de celles qui étaient basées sur l'emploi du claveau non sensibilisé (clavelisation, séro-clavelisation). L'application de ces dernières serait aujourd'hui injustifiable.

Dans certains cas la vaccination ne provoque pas de réaction locale apparente. L'immunité produite n'en est pas moins complète et durable.

Grâce à son innocuité, la vaccination anticlaveleuse peut être pratiquée en milieu sain lorsque les circonstances l'exigent (exportation, transhumance, etc.). En France, elle a été appliquée principalement en milieu contaminé. Son action, rapide et sûre, est uniquement préventive. Pratiquée, soit avant, soit après l'apparition des lésions, sur des animaux infectés, la vaccination n'a aucune influence sur la marche de la maladie qui évolue avec les caractères plus ou moins graves qu'elle aurait eus sans intervention. De sorte que, *dans un troupeau infecté*, soumis à la vaccination anticlaveleuse, si l'on considère que le lot des animaux indemnes en apparence, qui reçoivent l'injection vaccinale, se compose : a) d'animaux déjà contami-

nés et qui se trouvent dans la période d'incubation de la maladie; *b*) d'animaux qui vont être contaminés dans les quarante-huit heures qui suivent la vaccination, c'est-à-dire pendant la courte période qui précède l'établissement de l'immunité; *c*) d'animaux qui échapperont à la contamination au cours de cette période, il est clair que les sujets de la catégorie *c* seuls resteront sains par la suite. Ces derniers constituent d'ailleurs la plus grande partie du lot vacciné si l'intervention a eu lieu au début de l'épizootie, et si l'on a eu soin d'isoler les malades afin de diminuer les chances d'infection pour les sujets encore indemnes. Quant aux animaux des catégories *a* et *b* ils présenteront des symptômes de clavelée dont l'apparition sera constatée dans les quinze jours qui suivront la vaccination.

A partir de ce moment, on sera en droit de considérer comme étant désormais à l'abri de l'infection tous les moutons vaccinés qui ne présentent pas de signes de clavelée. L'épizootie se trouve ainsi complètement enrayée en quinze jours, grâce à la vaccination (1).

La *séro-vaccination*, qui donne dans certaines maladies de si brillants résultats et qui permet d'enrayer la contagion et la mortalité dans un minimum de temps, *n'est pas applicable ici*. L'injection de sérum aurait, certes, pour résultat de préserver immédiatement de la contagion les animaux des catégories *b* et *c* et d'atténuer la gravité de la maladie chez les sujets de la catégorie *a*, mais lorsqu'il s'agirait de transformer l'immunité passive, passagère, conférée par le sérum, en une immunité active, durable, par la vaccination, il surgirait une difficulté presque impossible à résoudre. La durée de l'immunité sérique est en effet très variable suivant les sujets; si on lui reconnaît ordinairement une durée de quinze jours, il n'est pas exceptionnel que des moutons perdent cette immunité au dixième jour, alors que d'autres, — les jeunes par exemple, — la

(1) Nous devons rappeler aux vétérinaires vaccinateurs un fait classique, moins rare peut-être qu'on ne le pense : c'est l'apparition, quelque temps après une éruption discrète (une semaine ou plus), d'une éruption secondaire plus accusée. Si la première a passé inaperçue, on considère la nouvelle comme la première manifestation de la clavelée et on conclut, à tort, que le sujet malade a été contaminé après et malgré la vaccination, à une époque où l'immunité devait être acquise. Si l'on examine attentivement les malades, on remarque alors qu'à côté de lésions récentes, il se trouve des lésions anciennes qui établissent l'âge de la maladie,

conservent trois semaines et au delà. Dans ces conditions, à quel moment devrait-on pratiquer la vaccination? Trop précoce, elle resterait sans effet sur les animaux qui seraient encore sous l'influence du sérum. Trop tardive, elle n'empêcherait pas l'apparition des lésions sur les sujets contaminés depuis la perte de leur immunité passive, et, dans les deux cas, la durée de l'infection du troupeau se trouverait prolongée.

Par contre, la sérothérapie est susceptible de rendre de grands services au point de vue curatif. Appliquée dès l'apparition des premières lésions, elle arrête l'évolution de la clavelée si celle-ci est bénigne, et elle en atténue dans tous les cas la gravité.

La vaccination peut être pratiquée sur tous les ovins quels que soient leur âge et leur état physiologique. Sur des centaines de mille brebis pleines vaccinées, à peine a-t-on signalé quelques avortements à la suite de l'intervention et encore la relation entre les deux faits n'a-t-elle pas été établie avec certitude. Chez les brebis en lactation, l'injection vaccinale peut modifier d'une façon passagère la sécrétion lactée; celle-ci diminue légèrement pendant la courte période fébrile de réaction générale qui suit l'opération. Il n'en résulte pas d'inconvénient marqué pour l'alimentation des jeunes (Dubois).

Il a été constaté, à diverses reprises, que la vaccination pratiquée au cours de la gestation avait pour résultat l'apparition de l'immunité, non seulement chez la mère, mais aussi chez l'agneau, pourvu que l'agnelage ait lieu cinq jours au moins après l'opération (Laubion, Canaby).

La vaccination anticlaveuse peut être pratiquée en toute saison.

Une même dose de vaccin convient également pour tous les sujets, malgré les différences que l'âge apporte dans leur poids. *Cette règle ne comporte aucune exception* : les nouveau-nés, même, doivent recevoir la dose uniforme de $1/5$ centimètre cube, les agneaux se montrant moins sensibles que les adultes à l'inoculation du vaccin.

EN PRÉSENCE D'UN TROUPEAU CLAVELEUX, la conduite à tenir — en dehors de l'application des mesures sanitaires légales — nous paraît être la suivante :

1° Séparation et isolement des malades, au moins pendant quelques jours, afin de mettre à l'abri de l'infection les animaux qui seront vaccinés et dont l'immunité ne se manifestera que deux jours après la vaccination ;

2° Vaccination de tous les sujets sains en apparence et ayant été ou pouvant être exposés à la contagion ;

3° Surveillance du troupeau : si la maladie présente des caractères graves, il y aura avantage à traiter au sérum anticlaveleux les animaux infectés, la dose variant entre 10 et 50 cent. cubes suivant la taille des sujets et l'importance des lésions.

On réduit ainsi à leur minimum l'importance et la durée d'une épizootie commençante.

BIBLIOGRAPHIE

J. BRIDRÉ et A. BOQUET, Sur la vaccination anticlaveleuse au moyen du virus sensibilisé. *C. R. Acad. des Sc.*, **154**, 15 janvier et 6 mai 1912 ; **155**, 29 juillet 1912 ; **156**, 23 juin 1913 ; Ces *Annales*, **27**, octobre 1913 ; *Revue générale de méd. vétér.*, **23**, 15 février 1914. — L'importation en France des moutons algériens et la protection des troupeaux métropolitains contre la clavelée. *Bull. de la Soc. de Pathol. exotique*, 7 juin 1914.

CH. DUBOIS, Expériences de vaccination contre la clavelée par la méthode des vaccins sensibilisés. *Revue générale de méd. vétér.*, **22**, 15 décembre 1913. — Nouvelles expériences de vaccination contre la clavelée par la méthode des virus sensibilisés. *Revue générale de méd. vétér.*, **23**, 15 juillet 1914.

LAUBION, La vaccination anticlaveleuse dans les troupeaux français. *Revue générale de méd. vétér.*, **23**, 1^{er} avril 1914.

MARTEL, La clavelée dans le troupeau du camp retranché de Paris. *Bull. de la Soc. centr. de méd. vétér.*, 30 mars 1918.

CANABY, Vaccination anticlaveleuse par virus sensibilisé dans les Bouches-du-Rhône. *Bull. de la Soc. centr. de méd. vétér.*, 30 juillet 1919.

CULTURE DU BACILLE PYOCYANIQUE SUR MILIEUX CHIMIQUEMENT DÉFINIS

par A. LIOT (1).

INTRODUCTION

Le bacille pyocyanique type a la propriété de développer dans les milieux de culture une substance particulière connue sous le nom de *pyocyanine* qui se comporte comme un véritable alcaloïde; isolée par Fordos (2) elle fut l'objet d'une étude très complète de Gessard.

Déplacée de ses combinaisons salines par les alcalis, elle est entraînable par le chloroforme qu'elle colore en bleu ciel foncé. Ce dernier, agité avec de l'eau additionnée d'un acide, l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique par exemple, perd sa coloration bleue, tandis que la pyocyanine passe dans l'eau acidulée à l'état de combinaison de sulfate ou de chlorhydrate de pyocyanine en donnant une solution rouge.

Le bacille pyocyanique produit cette substance chromogène avec les bouillons nutritifs ordinaires et principalement en présence de peptone. Il la produit également, ainsi que l'a montré Gessard, sur des milieux chimiquement définis constitués par une solution renfermant à la fois du succinate d'ammoniaque, du sulfate de magnésie et du phosphate de potasse (3).

(1) Mémoire extrait de la Thèse pour l'obtention du diplôme supérieur de pharmacien, par A. LIOT : *Culture du bacille pyocyanique sur milieux chimiquement définis*. Paris, 1923, Librairie Vigot.

(2) M. FORDOS, Recherches sur la matière colorante des suppurations bleues : pyocyanine. *C. R. Acad. Sc.*, 51, p. 215, 1860.

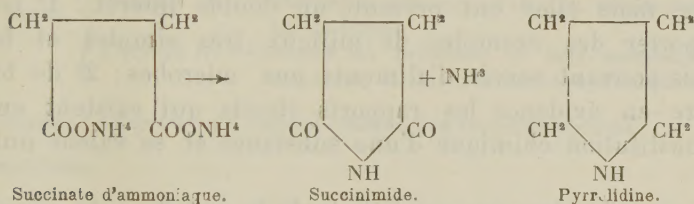
(3) On connaît également un bacille étudié par M. Radais (*) et qui, cultivé sur milieux favorables à l'apparition de pigments, donne tout d'abord les teintes habituelles du bacille pyocyanique, puis une teinte foncée passant au noir, coloration due à l'action de la tyrosinase, sécrétée par le bacille, sur la tyrosine des milieux, comme l'a montré Gessard.

(*) RADAIS, Sur une nouvelle race du bacille pyocyanique. *C. R. Soc. de Biol.*, t. IV, 10^e série, 1897, p. 808.

Enfin, comme nous l'avons établi, le microbe, toujours accompagné de son pigment, est capable de se développer sur des milieux encore plus simples, telle qu'une solution aqueuse de succinate d'ammoniaque.

La constatation de ce dernier fait a été le point de départ de toutes ces recherches. Ayant réussi à cultiver le bacille pyocyanique sur un milieu particulièrement simple, nous espérons parvenir à expliquer la formation de ce pigment alcaloïdique par le microbe au moyen d'une suite de transformations chimiques dont il serait possible de saisir les différentes étapes s'effectuant à partir du succinate d'ammoniaque.

Le succinate d'ammoniaque peut donner aisément naissance par cyclisation de sa chaîne à de la succinimide qui, par réduction, conduit à des bases pyrrolidiques.



Notre première idée fut donc de rechercher si les réactions précédentes ne permettraient pas d'expliquer le mécanisme de la production de la pyocyanine dans les cultures.

Nous étions d'autant plus fondés à admettre cette hypothèse que, lorsqu'on cultive le bacille pyocyanique en présence de succinate d'ammoniaque, il y a dégagement d'ammoniaque, de même qu'il y a perte d'ammoniaque lorsqu'on passe du succinate d'ammoniaque à la succinimide.

Les recherches, dès le début, ont été conduites dans deux directions ; d'une part, nous avons préparé une quantité aussi importante que possible de pyocyanine, dans le but de poursuivre l'étude de sa constitution chimique, et nous avons ainsi constaté que cette substance n'est pas un corps à noyau pyrrolidique. Ce résultat nous oblige à admettre que si, conformément à notre hypothèse, les réactions précédentes concourent à la formation de pyocyanine, les bases pyrrolidiques ne constituent pas le terme final de transformation subie par le succinate d'ammoniaque.

D'autre part, nous avons étudié la valeur nutritive des différents sels ammoniacaux. Dans une première série d'essais nous avons mis en expérience les sels dérivés des acides organiques bibasiques, homologues de l'acide succinique, puis nous avons envisagé d'autres groupes de sels ammoniacaux.

Nous avons pu ainsi remarquer que beaucoup de sels organiques de formules moins complexes que les sels des acides bibasiques pouvaient être offerts comme aliments au bacille pyocyanique. Et cette constatation nous conduit encore à délaisser la première hypothèse d'après laquelle les sels ammoniacaux des acides bibasiques possédant deux fonctions acides en position γ devaient seuls convenir pour la culture du microbe et la production du pigment.

Ces recherches nous ont donc entraîné loin de l'idée première, mais elles ont présenté un double intérêt : 1° celui d'apporter des exemples de milieux très simples et bien définis pouvant servir d'aliments aux microbes ; 2° de bien mettre en évidence les rapports étroits qui existent entre la constitution chimique d'une substance et sa valeur nutritive.

Ce travail se termine par l'étude de la nutrition du microbe sur des milieux renfermant à la fois des substances sucrées et des sels ammoniacaux dérivant d'acides minéraux ; mais, contrairement à ce que l'on pouvait supposer, ces milieux ont une constitution beaucoup plus complexe que les précédents. Le microbe, au cours de sa vie, transforme le sucre en un certain nombre de produits plus simples, et le milieu primitivement bien défini se trouve être remplacé par un milieu dont les éléments constitutants ne sont pas exactement connus.

La complication est certainement encore plus grande pour les milieux renfermant des matières albuminoïdes, aussi simples fussent-elles. Aussi les résultats apportés par ces dernières expériences sur les sucres et les matières albuminoïdes sont-ils pratiquement assez difficiles à interpréter lorsqu'on les considère séparément. Mais lorsqu'on rapproche les faits observés de tous ceux que nous avons accumulés au cours de nombreuses expériences, on peut en tirer cette conclusion que les sels ammoniacaux à acides organiques sont la substance nécessaire à la production de pyocyanine.

Le plan suivi dans ce travail a été le suivant :

1^{re} PARTIE. *Chapitre I* : Conditions de culture.

2^e PARTIE. { *Chapitre I* : Cultures en présence des sels ammoniacaux
d'acides organiques monobasiques.
Chapitre II : Cultures en présence des sels ammoniacaux
d'acides organiques bibasiques.
Chapitre III : Cultures en présence des sels ammoniacaux
d'acides organiques possédant une ou plu-
sieurs fonctions oxygénées (alcool, phénol,
cétone).

3^e PARTIE. { *Chapitre I* : Cultures en présence d'amines.
Chapitre II : Cultures en présence d'amides.
Chapitre III : Cultures en présence d'acides aminés.

4^e PARTIE. { *Chapitre I* : Cultures en présence de sels ammoniacaux
minéraux.
Chapitre II : Cultures en présence d'alcools polyatomiques
ou de sucres.
Chapitre III : Cultures en présence de sels ammoniacaux
minéraux et de substances hydrocarbonées.

5^e PARTIE. : *Chapitre I* : Exposé critique des résultats obtenus.

CONCLUSIONS.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I

CONDITIONS DE CULTURE — ORIGINE DU MICROBE MILIEUX CULTURAUX

Les premiers essais furent faits avec le succinate d'ammoniaque comme source d'aliment. Il est donc rationnel de préciser dès le début la technique suivie pour l'utilisation de ce sel, car toutes les expériences postérieures seront méthodiquement calquées sur cette technique. Nous envisagerons tout d'abord la race microbienne mise en expérience, ensuite nous considérerons les milieux.

RACE MICROBIENNE. — Le microbe qui a servi pour toutes ces recherches provient d'une souche de l'Institut Pasteur, dési-

gnée sous la rubrique : race A, variété pyocyanogène. Toutes les générations successives sont donc des cultures filles de celle-ci.

MILIEUX NUTRITIFS. — Les milieux nutritifs utilisés dans ces essais sont des milieux minéraux simplifiés et désignés sous les noms de *Gélose minéralisée* et *Gélose non minéralisée*.

1° *Gélose minéralisée*. — Nous avons préparé séparément les deux solutions suivantes :

1° Phosphate de soude	5 gr.	2° Sulfate de magnésie	2 gr. 5
Eau bi-distillée	125 c. c.	Eau bi-distillée	125 c. c.

Ces solutions ont été ensuite stérilisées à $+ 115^{\circ}$ pendant vingt minutes.

D'autre part la solution de gélose a été obtenue par le procédé suivant :

25 grammes de gélose commerciale, coupée en petits morceaux, ont été mis à macérer dans 750 cent. cubes d'eau bi-distillée; on laisse macérer en vase clos pendant quarante-huit heures en remuant à plusieurs reprises, puis on fait dissoudre à l'autoclave en vapeur fluente (vers $+ 100^{\circ}$) et l'on filtre à chaud sur papier filtre Chardin. Avant refroidissement, c'est-à-dire vers $+ 40^{\circ}$, on ajoute au liquide limpide la solution de phosphate de soude, puis celle de sulfate de magnésie en ayant soin de bien agiter après chaque addition. On filtre à nouveau, mais cette nouvelle opération n'est pas indispensable, car nous avons pu constater, par des résultats comparatifs, que les conditions de culture n'étaient nullement modifiées dans l'un ou l'autre cas. On répartit ensuite par 10 cent. cubes en tubes préalablement stérilisés, en observant les précautions habituelles. On évite ainsi l'action prolongée de la chaleur qui favorise la formation d'un précipité dû à l'action des sels minéraux ajoutés sur les sels de calcium contenus dans la gélose.

C'est à cette *gélose minéralisée* que nous ajoutons, lors du besoin, les doses nécessaires de succinate d'ammoniaque dissous dans de l'eau bi-distillée, stérile.

Au moment de l'emploi on fait fondre au bain-marie la quantité de tubes de gélose nécessaire et on ajoute à chaque tube X gouttes de la solution de succinate d'ammoniaque à 1/10.

On agite et on laisse solidifier en inclinant les tubes.

Le succinate d'ammoniaque est représenté par la formule $\text{CO}^2\text{NH}^1 - (\text{CH}^2)^2 - \text{CO}^2\text{NH}^1 = 152$, 152 grammes de ce sel contiennent 34 d'ammoniaque. Les X gouttes utilisées, renfermant 0 gr. 05 de sel, correspondent à 0 gr. 011 d'ammoniaque.

C'est sur ce milieu que nous avons entretenu la souche pendant toute la durée des essais, et c'est toujours lui qui a servi pour obtenir les tubes témoins dans chaque série d'expériences.

Poussant même plus loin la simplification du milieu minéral nous sommes allés jusqu'à supprimer totalement les sels, et nous avons été ainsi amenés à faire comparativement des essais en utilisant uniquement le succinate d'ammoniaque comme substance alimentaire.

2° *Gélose non minéralisée*. — Milieu uniquement constitué par une solution aqueuse de gélose à 20 p. 1.000 préparée et filtrée dans les mêmes conditions que la solution de gélose minéralisée ci-dessus décrite; on y ajoute après répartition en tubes X gouttes de la solution de succinate d'ammoniaque à 1/10.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE I

CULTURES EN PRÉSENCE DES SELS AMMONIACAUX D'ACIDES ORGANIQUES MONOBASIQUES

Après l'étude de la nutrition du bacille pyocyanique avec le succinate d'ammoniaque soit seul, soit en présence de sels minéraux, nous avons tenté de mettre en expérience les acides de même constitution chimique que l'acide succinique, puis d'autres acides organiques moins complexes.

Mais dans l'exposé des faits, il paraît plus rationnel de présenter cette étude d'abord avec les sels ammoniacaux des acides monobasiques avant ceux des acides bibasiques.

Nous étudierons donc les sels ammoniacaux des acides monobasiques à fonction simple (acides gras saturés d'hydrogène) : acides formique, acétique, propionique, butyrique, valérianique, caproïque, isocaproïque, laurique, myristique, palmitique, stéarique; puis parmi ceux dérivant d'hydrocarbures non saturés, les acides angélique, tiglique, undécylénique, oléique;

parmi les acides propioliques : l'acide sorbique et enfin parmi les acides aromatiques et monobasiques, les acides benzoïque et cinnamique.

Pour tous ces essais nous avons toujours donné la préférence aux milieux solides, qui permettent de mieux suivre le développement du microbe ; il est plus rapide dans ces conditions que sur les milieux liquides où beaucoup de microbes, lysés au contact de l'eau pure, ne peuvent plus se développer.

On a préparé des solutions aqueuses des sels ammoniacaux de ces acides en tenant compte du poids moléculaire de chacun d'eux et elles ont été titrées de telle sorte que dans X gouttes, c'est-à-dire dans 0 c. c. 5, il y ait la même quantité d'ammoniaque que dans le volume correspondant de solution de succinate d'ammoniaque (0 gr. 011)..

Pour chaque acide mis en expérience cette proportion a été établie de la façon suivante :

Le formiate d'ammoniaque $H-CO^*NH^4$ ayant pour poids moléculaire 63, 63 grammes de ce sel renferment 17 grammes d' NH^3 . La quantité de sel contenant 0 gr. 011 de NH^3 est donc $\frac{63 \times 0,011}{17} = 0 \text{ gr. } 0407$.

Pour la commodité des manipulations nous avons préparé une solution ajustée à un titre tel que X gouttes renferment 0 gr. 011 d'ammoniaque.

Nous avons procédé de la même manière pour tous les autres sels.

Les sels des acides laurique, myristique, palmitique et stéarique constituent des masses de consistance pâteuse insolubles dans l'eau. La prise d'essai de ces corps en suspension aqueuse de même que leur répartition homogène dans les milieux supports est donc délicate à réaliser.

Lesensemencements ont été faits comparativement sur gélose non minéralisée et sur gélose minéralisée additionnées avant leur emploi de X gouttes de la solution ammoniacale de chacun des acides mis en expérience et dans les conditions précédemment exposées au sujet de l'addition du succinate d'ammoniaque dans ces mêmes milieux.

Après un séjour à l'étuve on a constaté :

I. — AVEC LES ACIDES GRAS (saturés d'hydrogène).

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE après 48 heures	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE après 36 heures
Formiate	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Pas de développement. Pas de coloration.
Acétate	{ Développement très maigre. Coloration bleue.	Assez bon développement. Coloration verte.
Propionate . . .	{ Très léger développement. Coloration bleue.	Bon développement. Coloration verte.
Butyrate	{ Développement très maigre. Coloration bleue intense.	Bon développement. Coloration verte.
Valérianate . . .	{ Développement faible. Coloration bleue intense	Bon développement. Coloration verte intense.
Caproate	{ Développement faible. Coloration bleue intense.	Bon développement. Coloration verte intense.
Isocaproate. . .	{ Culture faible. Pas de coloration.	Culture faible. Pas de coloration.
Laurate. . . .	{ Développement faible. Légère coloration.	Développement faible. Pas de coloration
Myristate	{ Développement faible. Pas de coloration.	Pas de développement. Pas de coloration.
Palmitate. . . .	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Pas de développement. Pas de coloration.
Stéarate. . . .	{ Culture nulle. Pas de coloration.	Pas de développement. Pas de coloration.

La coloration commence à apparaître au bout de vingt-quatre heures, elle est généralement complète après quarante-huit heures, même pour les milieux sur gélose simple. Dans les cas négatifs le milieu était réensemencé et laissé encore trente-six heures à l'étuve avant de conclure définitivement à un résultat négatif. L'examen, dans ce cas, était répété plusieurs fois et à plusieurs mois d'intervalle.

Nous ne reviendrons plus, par la suite, sur ces temps de séjour à l'étuve.

D'après Aubel (1) le formiate d'ammoniaque est un aliment capable de donner des cultures en milieu synthétique; nous avons recommencé cette expérience plusieurs fois sans obtenir de résultat positif. D'autre part cet auteur (2) a constaté que ce sel ne donne lieu à aucune coloration pigmentaire.

(1) E. AUBEL, Recherches biochimiques sur la nutrition du bacille pyocyanique. *Thèse Doct. Sc.*, Paris, 1922, p. 93.

(2) *Id.*, p. 79.

II. — ACIDES MONOBASIQUES DE LA SÉRIE GRASSE POSSÉDANT UNE FONCTION ÉTHYLÉNIQUE (Acides oléiques).

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE après 48 heures	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE après 36 heures
Angélate (<i>trans</i>). }	Léger développement. Pas de coloration.	Très léger développement. Pas de coloration.
Tiglate (<i>cis</i>). . . }	Très léger développement. Pas de coloration.	Pas de développement. Pas de coloration.
Undécylénate. . }	Très léger développement. Pas de coloration.	Développement intense. Pas de coloration.
Oléate (<i>trans</i>). . }	Léger développement. Pas de coloration. (Très légère coloration bleue après plusieurs jours d'étuve.)	Léger développement. Pas de coloration.
Elaïdate (<i>cis</i>). . }	Pas de développement. Pas de coloration.	Pas de développement. Pas de coloration.

III. — ACIDES PROPIONIQUES.

Sorbate. }	Très léger développement. Coloration bleue intense.	Bon développement. Coloration verte.
--------------------	--	---

IV. — ACIDES AROMATIQUES.

Acides aromatiques proprement dits.

Benzoate }	Pas de développement. Pas de coloration.	Dévelop ^t très maigre. Pas de coloration.
--------------------	---	---

Acides aromatiques possédant une fonction éthylénique.

Cinnamate . . . }	Culture maigre. Pas de coloration.	Léger développement. Pas de coloration.
-------------------	---------------------------------------	--

On peut tirer de ces essais la conclusion qu'en général les sels ammoniacaux des acides gras saturés monobasiques peuvent servir au développement du bacille pyocyanique qui produit à partir de ces corps de la pyocyanine en abondance. Les acides acétique, propionique, butyrique, valériannique et caproïque sont ceux qui conviennent le mieux. On remarquera que ce sont ces acides qui se rencontrent le plus souvent dans les fermentations.

L'acide formique ne se comporte pas comme ses homologues, et cela se conçoit, connaissant le pouvoir antiseptique de cet acide.

L'expérimentation est assez difficile à réaliser pour les termes plus élevés de la série, les savons, et l'on peut dire qu'ils ne peuvent servir au développement du bacille pyocyanique; le laurate semble être à la limite des deux groupes des acides gras monobasiques.

Les acides gras non saturés ne peuvent être utilisés par ce micro-organisme, pas plus que les acides aromatiques.

L'acide propiolique toutefois, avec ses deux fonctions éthyléniques, a donné un résultat positif.

Dans tous ces essais, on obtient seulement le pigment bleu sur le milieu non minéralisé, tandis que sur le milieu minéralisé il y a superposition des deux pigments : le bleu et le fluorescent. L'influence des phosphates, signalée par Gessard, dans la production du pigment fluorescent est donc ici complètement démontrée.

Au cours de ce travail, lorsque nous employons le terme « coloration verte », ceci implique qu'il y a les deux colorations.

L'isocaproate pur ne donnant aucune réaction, il est très facile de différencier ce corps du caproate : 10 p. 100 de caproate dans l'isocaproate peuvent ainsi être décelés.

CHAPITRE II

CULTURES EN PRÉSENCE DES SELS AMMONIACAUX D'ACIDES ORGANIQUES BIBASIQUES

Gessard a montré le premier que l'addition de succinate d'ammoniaque était indispensable aux milieux exclusivement minéraux pour la formation du pigment bleu produit par le bacille pyocyanique. Il était naturel de rechercher si ce pigment ne pouvait se former dans les mêmes conditions biologiques en présence des sels ammoniacaux des acides bibasiques de la série succinique.

I. — ACIDES BIBASIQUES DE LA SÉRIE GRASSE (saturés d'hydrogène).

Les conditions de culture ont été les mêmes que précédemment et on a observé les résultats suivants :

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
Oxalate	{ Culture nulle. Pas de coloration.	Pas de développement. Pas de coloration.
Malonate	{ Léger développement. Coloration bleue.	Développement. Coloration verte nette.
Succinate	{ Développement. Coloration bleue très nette.	Développement intense. Coloration verte très nette.
Isosuccinate ou méthylmalonate.	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Pas de développement. Pas de coloration.
Glutarate	{ Léger développement. Coloration bleue.	Développement abondant. Coloration verte.
Subérate	{ Léger développement. Coloration bleue.	Développement. Coloration verte.
Sébacate	{ Très léger développement. Coloration bleue.	Développement marqué. Coloration bleue noirâtre très prononcée.

II. — ACIDES BIBASIQUES

DE LA SÉRIE GRASSE POSSÉDANT UNE FONCTION ÉTHYLÉNIQUE.

Les acides de ce groupe présentant des isomères stéréochimiques différents au point de vue des propriétés physiques et chimiques, il était intéressant de connaître comment le bacille pyocyanique se comporterait en leur présence et s'il y aurait possibilité d'établir une corrélation entre leur constitution et leur utilisation.

Après vingt-quatre heures d'étuve on constate :

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
Fumarate (<i>trans</i>).	{ Développement maigre. Légère coloration bleue.	Bon développement. Coloration verte très nette.
Maléate (<i>cis</i>) . .	{ Développement presque nul. Très légère coloration bleue.	Développement nul. Pas de coloration.
Mésaconate (<i>trans</i>).	{ Développement maigre. Coloration bleue très nette.	Bon développement. Coloration verte nette.
Citraconate (<i>cis</i>).	{ Développement très maigre. Légère coloration bleue.	Développement. Pas de coloration.
Itaconate ou méthylène- succinate	{ Très léger développement. Coloration bleue intense.	Développement très net. Coloration verte très nette.

Le bacille pyocyanique, ainsi que nous l'avons constaté avec M. Goris (1), peut donc produire son pigment bleu aux dépens

(1) A. GORIS et A. LIOT, Observations sur la culture du bacille pyocyanique sur milieux artificiels définis. *C. R. Acad. Sc.*, 172, 1921, p. 1622.

des sels ammoniacaux des acides bibasiques envisagés. De plus ce sont les acides en position *trans* qui donnent le pigment alors que les acides en position *cis* ne le produisent pas sur le milieu gélosé minéralisé.

Parmi les *acides bibasiques de la série aromatique*, nous avons essayé l'acide phtalique.

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
---	---	---
Phtalate.	{ Développement nul. Pas de coloration.	{ Pas de développement. Pas de coloration.

Les acides bibasiques de la série succinique se montrent donc d'excellents aliments pour le bacille pyocyanique qui donne rapidement et en abondance de la pyocyanine. Il n'y a d'exception que pour le premier terme de la série : l'acide oxalique et aussi pour un homologue de l'acide succinique, l'acide méthylmalonique.

Les acides aromatiques bibasiques ne peuvent servir d'aliments au bacille pyocyanique.

Les acides bibasiques à fonction éthylénique se comportent différemment suivant que l'on ajoute des isomères *cis* ou *trans* au milieu minéralisé : l'isomère *trans* peut servir à la production de pyocyanine contrairement aux isomères *cis*.

Ici, comme pour les acides monobasiques, les cultures sur milieux non minéralisés sont d'un beau bleu et sur milieux minéralisés d'un vert fluorescent masquant la pyocyanine.

CHAPITRE III

CULTURES EN PRÉSENCE DES SELS AMMONIACAUX D'ACIDES ORGANIQUES POSSÉDANT UNE OU PLUSIEURS FONCTIONS OXYGÉNÉES (ALCOOL, PHÉNOL, CÉTONE)

Après les essais de culture en présence des corps possédant une ou plusieurs fonctions acides (saturés ou non saturés d'hydrogène) nous avons poursuivi les expériences en utilisant les acides monobasiques et les acides bibasiques possédant en outre de leurs fonctions acides une ou plusieurs fonc-

tions oxygénées (alcool, phénol, cétone). Puis parmi les termes plus élevés nous avons essayé l'acide citrique.

Les résultats constatés sont les suivants :

I. — ACIDES ALCOOLS MONOBASIQUES.

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
a) <i>Monoalcooliques.</i>		
Glycolate . . .	Culture maigre.	Développement maigre.
	Pas de coloration.	Pas de coloration.
Lactate (droit) .	Culture maigre.	Bon développement.
	Coloration bleue.	Coloration verte nette.
Lactate (racémique).	Culture maigre.	Bon développement.
	Coloration bleue.	Coloration verte nette.
b) <i>Dialcooliques.</i>		
Glycérate . . .	Léger développement.	Développement abondant.
	Légère coloration bleue.	Coloration verte très nette.
c) <i>Pentalcooliques.</i>		
Gluconate . . .	Culture maigre.	Très bon développement.
	Coloration bleue.	Coloration verte intense (tendance à teinte feuille morte).

II. — ACIDES ACÉTONES MONOBASIQUES.

Monocétoniques.

Pyruvate . . .	Bon développement.	Culture peu abondante.
	Légère coloration.	Coloration verte très nette.

III. — ACIDES PHÉNOLS MONOBASIQUES.

a) *Monophénoliques.*

Salicylate . . .	Culture nulle.	Très léger développement.
	Pas de coloration.	Pas de coloration.

b) *Triphénoliques.*

Gallate	Pas de culture.	Pas de culture.
	Pas de coloration.	Pas de coloration.

IV. — ACIDES ALCOOLS BIBASIQUES.

a) *Monoalcooliques.*

Malate (neutre).	Culture maigre.	Bon développement.
	Très légère teinte bleue.	Coloration verte.

AMMONIAQUE

SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE

SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE

b) *Dialcooliques.*

Tartrate (en milieu légèrement acide).	{ Développement très maigre. Pas de coloration.	Bon développement. Pas de coloration.
Tartrate (droit) neutre (1).	{ Maigre développement. Pas de coloration.	Assez bon développement. Pas de coloration.
Tartrate (gauche).	{ d° d°	d° d°
Tartrate (racémique).	{ d° d°	d° d°
Tartrate (inactif).	{ d° d°	d° d°

c) *Tétralcooliques.*

Mucate (milieu neutre seulement).	{ Culture nulle. Pas de coloration.	Développem ^t presque nul. Pas de coloration.
Saccharate . . .	{ Culture nulle. Pas de coloration.	Développement nul. Pas de coloration.

V. — ACIDES ALCOOLS TRIBASIQUES ET MONOALCOOLICIQUES.

Citrate (milieu neutre).	{ Très léger développement. Pas de coloration.	Développement maigre. Très légère teinte verte.
Citrate (milieu légèrement acide).	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Pas de développement. Pas de coloration.

Les acides monobasiques à fonction alcool sont de bons aliments pour le microbe et de bons producteurs de pyocyanine (2). Il en est de même de l'acide pyruvique à fonction cétonique. Les acides lactique droit et racémique ont donné une réaction positive ; il est à supposer que l'acide lactique gauche se comporterait de même. Ces acides sont ceux que l'on rencontre surtout dans la fermentation des matières sucrées.

Les acides phénoliques monobasiques ont donné un résultat négatif.

Les acides bibasiques à fonction alcoolique, dont tous les atomes de carbone compris entre les deux fonctions acides portent une substitution oxhydrile, ne donnent pas de pyocya-

(1) N. B. — Le résultat en présence de tartrate d'ammoniaque neutre nous ayant frappé, l'essai a été refait en présence de tartrate d'ammoniaque légèrement acide, par comparaison avec les essais effectués sur le succinate d'ammoniaque légèrement acide.

(2) Toutefois le premier terme de la série (l'acide glycolique) a donné un résultat négatif.

nine. Les acides tartrique droit, gauche, inactif et racémique se sont comportés de la même façon. Au contraire l'acide malonique qui possède un CII^o sans substitution oxhydrile est assez bon producteur de pyocyanine.

Il ne semble pas que l'isomérisie optique joue ici un rôle comparable à celui trouvé pour l'isomérisie des corps diacides mono-éthyléniques de la série grasse.

L'acide citrique lui-même est tout aussi médiocre aliment que mauvais producteur de pyocyanine.

TROISIÈME PARTIE

A la suite de ces essais sur les sels ammoniacaux il nous a paru intéressant de voir si les substances azotées les plus voisines : amines et amides, pourraient dans certaines conditions être utilisées par le bacille pyocyanique pour son développement et la production de pyocyanine.

Nous y avons été amené également par une autre considération.

Dans des essais antérieurs l'asparagine avait paru être assez bon aliment pour le bacille pyocyanique ; c'est en voulant nous rendre compte si cette valeur nutritive devrait être rapportée au groupement aminé ou au groupement amidé que nous avons songé à expérimenter les amines et les amides.

CHAPITRE I

CULTURES EN PRÉSENCE D'AMINES

L'expérimentation avec les amines est excessivement difficile à réaliser, car il est impossible d'obtenir ces corps exempts d'ammoniaque, on ne peut guère les utiliser à l'état de bases, et si on veut employer les sels, il faut se servir de sels stables, comme, par exemple, le chlorhydrate. Mais nous ferons remarquer que ces composés sont difficilement assimilés par le microbe. Il faudrait, d'après ce qu'ont montré les expériences, disposer de carbonates ou de sels organiques d'amines absolument exempts d'ammoniaque pour donner un résultat certain.

Les corps mis en expérience dans cette série d'essais ont été les chlorhydrates suivants : mono-, di-, triméthylamine, isopropylamine et diéthylamine.

Les essais de culture ont été faits en utilisant le sel soit seul, à l'exclusion de toute autre substance, soit en présence de divers hydrates de carbone ajoutés aux milieux supports.

On s'est servi du glucose et du lévulose parmi les substances sucrées; de la glycérine et de la mannite parmi les alcools (X gouttes par tube de solution à 2 p. 100 de chaque substance envisagée).

Dans tous les cas envisagés les résultats ont été négatifs; il n'y a eu ni développement du microbe, ni production de pyocyanine. Les chlorhydrates d'amines ne peuvent donc servir à la production de pyocyanine, employés seuls ou concurremment avec les hydrates de carbone. Il serait alors intéressant de s'adresser à une amine salifiée par un acide organique.

Aubel (1) avait également constaté que les mono-, di-, triméthylamine, la monoéthylamine et la propylamine ne permettaient pas de développement.

CHAPITRE II

CULTURES EN PRÉSENCE D'AMIDES

Dans cette série d'essais les corps azotés offerts au microbe appartiennent soit au groupe des amides (amides des acides monobasiques et bibasiques), soit encore à celui des imides.

Résultats :

I. — AMIDES DES ACIDES MONOBASIQUES A FONCTION SIMPLE.

	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
a)		
Acétamide (2). .	{ Pas de développement. Pas de coloration.	{ Pas de développement. Pas de coloration.
b)		
Benzamide . . .	{ Pas de développement. Pas de coloration.	{ Pas de développement. Pas de coloration.

(1) E. AUBEL. *Loc. cit.*, p. 16.

(2) L'acétamide employé a été préparé à l'état de pureté sans trace d'acétate d'ammoniaque; en prolongeant l'expérience, il y aurait eu production de pyocyanine qu'il y a lieu d'attribuer, selon toute vraisemblance, à la formation d'acétate d'ammoniaque par fixation d'eau.

II. — AMIDES DES ACIDES POLYBASQUES.

	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
a) <i>Amides carboniques.</i>		
Acide carbamique.	{ Culture très maigre.	Pas de développement.
	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
Carbamide (urée).	{ Développement nul.	Développement nul.
	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
Acide cyanurique.	{ Développement nul.	Développement nul.
	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
b) <i>Amidine carbonique.</i>		
Guanidine. . . .	{ Pas de développement.	Pas de développement.
	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
c) <i>Amides oxaliques.</i>		
Oxamide	{ Pas de développement.	Pas de développement.
	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
Oxamate d'ammoniaque.	{ Développement très maigre.	Développement très maigre.
	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
d) <i>Amide malonique.</i>		
Malonamide. . .	{ Pas de développement.	Pas de développement.
	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
e) <i>Amides succiniques.</i>		
Succinamide . .	{ Pas de développement.	Pas de développement.
	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
Succinimide. . .	{ Léger développement.	Léger développement.
	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.

III. — AMIDES DES ACIDES A FONCTION MIXTE.

a) <i>Amides des amino-acides bibasiques.</i>		
Asparagine . . .	{ Bon développement.	Bon développement.
	{ Coloration verte (après 24 h.),	Colorat. verte fluorescente.
	{ puis violette (après 36 h.).	

Ce résultat avec l'asparagine semble être en contradiction avec les résultats obtenus avec toutes les amides. On verra par la suite que lorsqu'on bloque la fonction amine par l'acide chlorhydrique (p. 269) pour ne laisser libre que la fonction amide les résultats sont cette fois négatifs.

IV. — AMIDES DES SÉRIES PLUS COMPLEXES.

<i>Amide cholalique de la glycolamine.</i>		
Acide glycocholique.	{ Pas de développement.	Pas de développement.
	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.

Ainsi donc les amides employées seules sans addition d'autres substances organiques ne peuvent en général fournir ni développement, ni pyocyanine. Il n'y a d'exception que pour l'asparagine qui renferme un groupement aminé.

Si l'on ajoute au milieu un hydrate de carbone : glycérine, glucose, lévulose, mannite, il se produit un bon développement et une coloration avec l'acétamide et l'urée seulement. On verra plus loin que dans ces conditions ce ne sont pas les amides elles-mêmes qui interviennent, mais que des réactions secondaires se sont produites.

Cultures en présence d'amides additionnées de sucres ou d'alcools polyatomiques.

Les résultats des essais consignés ci-dessous ayant été négatifs sur gélose minéralisée, c'est-à-dire dans les conditions les plus favorables au développement du microbe, il n'a pas paru nécessaire de reprendre les mêmes essais sur gélose non minéralisée.

Comme précédemment, les sucres mis en expérience ont été le glucose et le lévulose; les alcools choisis ont été la glycérine et la mannite.

Nous présentons ici les résultats obtenus avec les différents corps essayés.

AMIDES DES ACIDES MONOBASIQUES.

SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE

a) Amide de la série grasse.

Acétamide, Glycérine,	{	Assez bon développement.
— Mannite	{	Coloration verte.
— Glucose	{	d°
— Lévulose.	{	(Légère tendance du milieu à se décolorer).
	{	Assez bon développement.
	{	Coloration verte.

b) Amide de la série aromatique.

Benzamide, Glycérine	{	Pas de développement.
— Mannite	{	Pas de coloration.
— Glucose	{	d°
— Lévulose	{	d°

AMIDES DES ACIDES POLYBASQUES.

SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE

a) *Amide carbonique.*

Urée, Glycérine	} Bon développement (1). Coloration verte très nette.
— Mannite	
— Glucose	
— Lévéulose	

b) *Amidine carbonique.*

Guanidine (carbonate de), Glycérine . .	} Pas de développement. Pas de coloration.
— — Mannite . . .	
— — Glucose . . .	
— — Lévéulose . .	

c) *Amide malonique.*

Malonamide, Glycérine	} Pas de développement. Pas de coloration.
— Mannite	
— Glucose	
— Lévéulose	

d) *Amide succinique.*

Succinamide, Glycérine	} Pas de développement. Pas de coloration.
— Mannite	
— Glucose	
— Lévéulose	

On voit que d'une façon générale les amides soit seules, soit accompagnées des alcools ou des sucres sont impropres à servir d'aliments au bacille pyocyanique.

L'exception constatée dans le cas de l'acétamide n'est peut-être qu'apparente, les résultats positifs obtenus avec ce corps ne peuvent être considérés comme absolument rigoureux; l'acétamide fixe en effet très facilement l'humidité de l'air en donnant naissance à de l'acétate d'ammoniaque. C'est peut-être à la présence inévitable de ce sel qu'il faut attribuer le développement du bacille et la production de pyocyanine.

N. B. — En présence des résultats négatifs obtenus avec les amides les plus simples et les sucres nous n'avons pas cru devoir faire ces mêmes essais avec l'oxamide, l'acide carbanique, l'acide cyanurique, etc.

(1) L'explication en sera fournie dans la cinquième partie (voir page 266), en étudiant la valeur nutritive des sucres et des sels ammoniacaux.

CHAPITRE III

Les amines et les amides nous ont conduit à envisager l'emploi, comme source d'azote, des acides aminés qui sont les principes constitutifs des matières albuminoïdes.

CULTURES EN PRÉSENCE D'ACIDES AMINÉS

Les essais ont été effectués avec les différents amino-acides que l'on peut se procurer actuellement. Ces acides aminés ont été mis en solutions aqueuses titrées de telle sorte que la teneur en azote corresponde exactement à celle qui est contenue dans X gouttes de solution de succinate d'ammoniaque à 1/10, c'est-à-dire à 0,0092.

Les résultats observés ont été les suivants :

I. — MONOACIDES MONOAMINÉS.

	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
Glycocolle (1) (de l'osséine).	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Bon développement. Pas de coloration.
Alanine (droite).	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Bon développement. Coloration verte intense.
Alanine (inactive).	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Bon développement. Coloration verte intense.
Leucine (gauche).	{ Très maigre développement. Légère coloration violacée.	Bon développement. Coloration verte.
Phénylalanine.	{ Développement presque nul. Teinte violacée noirâtre.	Très bon développement. Coloration verte intense.
Tyrosine	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Pas de développement. Pas de coloration.
Histidine	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Bon développement. Légère coloration verte dans le bas du tube, vio- lette dans le haut.
Tryptophane . .	{ Léger développement. Coloration violacée noirâtre.	Maigre développement. Coloration verte noirâtre.

(1) Le milieu contenant du glycocolle en présence de glucose, de lévulose, de glycérine ou de mannite donne lieu à une culture abondante et à la production de coloration verte. De plus les cultures sur milieu glycocolle-glucose ont tendance à se décolorer.

II. — MONOACIDES DIAMINÉS ET DÉRIVÉS.

	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
Lysine	Pas de développement.	Pas de développement.
(bichlorhydrate).	Pas de coloration.	Pas de coloration.
Arginine	Pas de développement.	Bon développement.
	Pas de coloration.	Très légère colorat. verte.

III. — DIACIDES MONOAMINÉS.

Acide	Très maigre développement.	Léger développement.
aspartiquel.(1).	Légère coloration violacée.	Légère coloration verte.
Acide	Pas de développement.	Assez bon développement.
glutamique dr.	Légère coloration violacée.	Coloration verte.
Aspartate	Très maigre développement.	Bon développement.
d'ammoniaque.	Légère coloration bleue.	Coloration verte très nette.
Glutamate	Très maigre développement.	Bon développement.
d'ammoniaque.	Légère coloration bleue.	Coloration verte très nette.
Asparagine . . .	Pas de développement.	Léger développement.
	Pas de coloration.	Pas de coloration.

IV. — ACIDES AMINÉS A NOYAU SULFURÉ.

Acide amino-thiopropionique.

Cystine	Pas de développement.	Léger développement.
	Pas de coloration.	Coloration vert pâle.

En général les acides aminés semblent de moins bons aliments que les sels ammoniacaux.

Le glyocolle employé seul n'est pas utilisé par le bacille pyocyannique, mais si on le met en présence d'hydrates de carbone : glucose, lévulose, glycérine, mannite, il y a production de pyocyanine.

La leucine, aliment défectueux, d'après Aubel, a permis un bon développement (2). Galimard et Lacomme ont aussi obtenu

(1) Peut-être la cause de ces résultats est-elle due à la forte réaction acide des milieux. Aubel a signalé qu'un excès d'acidité empêche la production de pyocyanine (E. AUBEL, *loc. cit.*, p. 84).

(2) E. AUBEL. *Loc. cit.*, p. 15.

des cultures avec le glyocolle et la leucine, mais sur milieu complexe contenant de la glycérine (1).

Les autres acides aminés ne donnent pas de pyocyanine ou en donnent très faiblement sur les milieux non minéralisés; sur les milieux minéralisés la production est très nette, sauf pour la tyrosine, contrairement à ce qu'a trouvé Aubel (2). Peut-être l'oxhydride phénolique jouerait-il le même rôle inhibiteur que l'oxhydride alcoolique des acides alcools polyatomiques, tel qu'on l'a constaté pour l'acide tartrique.

La lysine à l'état de chlorhydrate et l'arginine sont de médiocres aliments et de médiocres producteurs de pyocyanine.

Dans le cas des acides aminés comme dans celui des acides lactique et tartrique, il semble que l'isomérisation optique n'intervient pas dans la production du phénomène.

QUATRIÈME PARTIE

On a vu par ce qui précède que les sels ammoniacaux des acides organiques sont en général de bons aliments pour le bacille pyocyanique. Nous avons alors essayé la nutrition de ce bacille en présence des sels minéraux, pris sans aucune addition d'autres substances organiques. Comme les résultats furent négatifs, ce qui était d'ailleurs à prévoir, nous avons ensuite ajouté à ces sels ammoniacaux des substances hydrocarbonées diverses. La différence des résultats obtenus par la culture du bacille sur l'urée et sur le glyocolle, en présence ou en l'absence d'hydrates de carbone, nous engageait d'ailleurs à faire cet essai.

Mais auparavant nous avons voulu voir comment se comportait le bacille en présence de diverses substances hydrocarbonées employées seules.

Ce sont les résultats obtenus qui vont être exposés dans les trois chapitres suivants.

(1) J. GALIMARD et L. LACOMME, Les acides aminés comme nouveaux milieux de culture sur milieux chimiquement définis pour l'étude des microbes. *Journ. de Phys. et de Path. gén.*, 9, p. 481, 1907.

(2) E. AUBEL. *Loc. cit.*, p. 15.

CHAPITRE I

CULTURES EN PRÉSENCE DE SELS AMMONIACAUX MINÉRAUX

Le titre des solutions de sels ammoniacaux correspondait à celui de la solution initiale de succinate d'ammoniaque, c'est-à-dire que X gouttes avaient une teneur en ammoniaque équivalant à 0 gr. 011.

Les résultats constatés ont été les suivants :

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
Carbonate. . . .	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Léger développement. Pas de coloration.
Chlorhydrate . .	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Légère culture. Pas de coloration.
Sulfate	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Légère culture. Pas de coloration.
Azotate	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Culture très maigre. Pas de coloration.
Phosphate . . .	{ Pas de développement. Pas de coloration.	Léger développement. Pas de coloration.

Les résultats sont négatifs. Le faible développement des cultures constaté semble dû à la parcelle de substances nutritives apportées par les III gouttes de liquide ayant servi à ensemer et qui ont été étalées à la surface de la gélose.

CHAPITRE II

CULTURES

EN PRÉSENCE D'ALCOOLS POLYATOMIQUES OU DE SUCRES

Nous avons mis en expérience la série des corps suivants :

- 1° Des alcools polyatomiques ;
- 2° Des monoses ;
- 3° Des trioses et des polyoses.

Les milieux ont été préparés en ajoutant à la gélose non minéralisée et à la gélose minéralisée X gouttes, par tube, de solution à 2 p. 100 des diverses substances hydrocarbonées.

Voici les résultats constatés :

I. — CULTURES EN PRÉSENCE D'ALCOOLS POLYATOMIQUES.

	SUR GÉLOSE non minéralisée	SUR GÉLOSE minéralisée
a) <i>Alcools triatomiques.</i>		
Glycérine	{ Culture nulle.	Culture maigre.
$\text{CH}^2\text{OH} - \text{CHOH} - \text{CH}^2\text{OH} . . .$	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
b) <i>Alcools tétratomiques.</i>		
Erythrite	{ Culture nulle.	Cult ^{re} très maigre.
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^3 - \text{CH}^2\text{OH} . . .$	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
c) <i>Alcools hexatomiques.</i>		
Mannite	{ Culture nulle.	Culture maigre.
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^4 - \text{CH}^2\text{OH} . . .$	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
Sorbite	{ Culture nulle.	Culture nulle.
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^4 - \text{CH}^2\text{OH} . . .$	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
Dulcité	{ Culture nulle.	Cult ^{re} très maigre.
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^4 - \text{CH}^2\text{OH} . . .$	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
d) <i>Alcools heptatomiques.</i>		
Volémité	{ Culture nulle.	Cult ^{re} très maigre.
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^5 - \text{CH}^2\text{OH} . . .$	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
Perséité	{ Pas de développ ^t .	Pas de développ ^t .
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^5 - \text{CH}^2\text{OH} . . .$	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.

II. — CULTURES EN PRÉSENCE DE MONOSACCHARIDES.

a) <i>Pentoses.</i>		
Arabinose	{ Pas de développ ^t .	Pas de développ ^t .
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^3 - \text{CHO}$	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
Xylose	{ d ^o	d ^o
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^3 - \text{CHO}$	{ d ^o	d ^o
b) <i>Méthylpentose.</i>		
Rhamnose	{ Pas de développ ^t .	Pas de développ ^t .
$\text{CH}^3 - (\text{CHOH})^4 - \text{CHO}$	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
c) <i>Hexoses.</i>		
Glucose	{ Pas de développ ^t .	Pas de développ ^t .
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^4 - \text{CHO}$	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
Galactose	{ d ^o	d ^o
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^4 - \text{CHO}$	{ d ^o	d ^o
Mannose	{ d ^o	d ^o
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^4 - \text{CHO}$	{ d ^o	d ^o
Lévilose	{ d ^o	d ^o
$\text{CH}^2\text{OH} - (\text{CHOH})^3 - \text{CO} - \text{CH}^2\text{OH} .$	{ d ^o	d ^o

III. — CULTURES EN PRÉSENCE DE POLYSACCHARIDES.

1° BIOSES.

a) *Pento-hexobioses :*

Primevérose $[\text{C}^{11}\text{H}^{20}\text{O}^{10}]$	{ Pas de développ ^t .	Pas de développ ^t .
Glucose + xylose.	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.

	SUR GÉLOSE non minéralisée	SUR GÉLOSE minéralisée
b) <i>Hexobioses</i> :		
Saccharose [$C^{12}H^{22}O^{11}$]	{ Pas de développ ^t .	Pas de développ ^t .
Glucose + lévulose.	{ Pas de coloration.	Pas de coloration.
Lactose [$C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O$]	{ d°	d°
Glucose + galactose	{ d°	d°
Maltose [$C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O$]	{ d°	d°
Glucose + glucose	{ d°	d°
Tréhalose [$C^{12}H^{22}O^{11} + 2H^2O$]	{ d°	d°
Glucose + glucose	{ d°	d°

2° TRIOSES.

Hexotrioses :

Raffinose [$C^{18}H^{32}O^{16} + 5H^2O$]	{ d°	d°
Lévulose + glucose + galactose.	{ d°	d°

Les résultats sont entièrement négatifs, les diverses substances hydrocarbonées employées seules ne peuvent servir d'aliment au bacille pyocyanique.

Wasserzug (1) avait d'ailleurs constaté que les sucres empêchent la formation de la pyocyanine et Aubel (2) a montré que les hydrates de carbone gênent ou entravent l'élaboration du pigment par acidification du milieu.

CHAPITRE III

**CULTURES EN PRÉSENCE DE SELS AMMONIACAUX MINÉRAUX
ET DE SUBSTANCES ORGANIQUES TERNAIRES
(ALCOOLS OU SUCRES)**

Les milieux utilisés ont été préparés comme précédemment en incorporant à la gélose non minéralisée et à la gélose minéralisée X gouttes, par tube, de solution à 2 p. 100 des diverses substances hydrocarbonées en suivant l'ordre adopté dans le chapitre précédent; puis à ces milieux il a été ensuite ajouté des quantités calculées de sels ammoniacaux minéraux de telle façon qu'il n'y ait que 0,011 d'ammoniaque par milieu.

(1) E. WASSERZUG, Sur la formation de la matière colorante chez le *Bacillus pyocyaneus*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1, p. 586, 1887.

(2) E. AUBEL. *Loc cit.*, p. 83.

I. — CULTURES EN PRÉSENCE DE SELS AMMONIACAUX MINÉRAUX ET D'ALCOOLS POLYATOMIQUES.

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE non minéralisée	SUR GÉLOSE minéralisée
a) <i>Alcools triatomiques.</i>		
Glycérine + Carbonate	{ Pas de culture. Pas de coloration.	Culture moyenne. Légère coloration.
— + Chlorhydrate.	{ d° d°	Cult ^{re} assez abond. Pas de coloration.
— + Sulfate.	{ d° d°	Cult ^{re} assez abond. Très légère color.
— + Azotate	{ d° d°	Cult ^{re} abondante. Coloration verte.
— + Phosphate	{ d° d°	Cult ^{re} abondante. Color. jaune verd. (cette teinte est fréquente avec le phosphate).

Avec les homologues de la glycérine : méthyl-, éthyl-, propyl-glycérine les cultures sont maigres ou nulles et il n'y a pas de coloration; toutefois en présence de nitrate le développement s'est montré plus apparent.

b) <i>Alcools tétratomiques.</i>		
Erythrite + Carbonate	{ Culture nulle. Pas de coloration.	Cult ^{re} très maigre. Pas de coloration.
— + Chlorhydrate.	{ d° d°	Cult ^{re} très maigre. Pas de coloration.
— + Sulfate.	{ d°	d°
— + Azotate.	{ d°	d°
— + Phosphate	{ d°	d°

c) <i>Alcools hexatomiques.</i>		
Dulcité + Carbonate	{ Pas de culture. Pas de coloration.	Culture maigre. Pas de coloration.
— + Chlorhydrate.	{ d°	d°
— + Sulfate.	{ d°	d°
— + Azotate	{ d°	d°
— + Phosphate	{ d°	d°
Mannite + Carbonate	{ Pas de culture. Pas de coloration.	Bon développem. Coloration verte très nette.
— + Chlorhydrate.	{ d° d°	Bon développem. Pas de coloration.
— + Sulfate.	{ d° d°	Bon développem. Très légère color.

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE non minéralisée	SUR GÉLOSE minéralisée
Mannite + Azotate	{ Pas de coloration. d°	Bon développem ^t . Color. verte nette.
— + Phosphate	{ d°	Bon développem ^t . Color. jaune verd.
Sorbité + Carbonate	{ Pas de développ ^t . Pas de coloration.	Culture nulle. Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d°	d°
— + Sulfate	d°	d°
— + Azotate	d°	d°
— + Phosphate	d°	d°

d) *Alcools heptatomiques.*

Perséite + Carbonate	{ Très maigre dév ^t . Pas de coloration.	Très maigre dév ^t . Pas de coloration.
— + Azotate	d°	d°
— + Chlorhydrate	d°	d°
— + Sulfate	d°	d°
— + Phosphate	d°	d°
Volémite + Carbonate	{ Pas de développ ^t . Pas de coloration.	Pas de développ ^t . Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d°	d°
— + Azotate	d°	d°
— + Sulfate	d°	d°
— + Phosphate	d°	d°

En général dans ces essais les cultures ont été très maigres ou presque nulles.

II. — CULTURES EN PRÉSENCE DE SELS AMMONIACAUX MINÉRAUX ET DE MONOSES.

a) *Pentoses.*

Arabinose + Carbonate	{ Pas de développ ^t . Pas de coloration.	Pas de développ ^t . Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d°	d°
— + Azotate	d°	d°
— + Sulfate	d°	d°
— + Phosphate	d°	d°
Xylose + Carbonate	{ Pas de développ ^t . Pas de coloration.	Pas de développ ^t . Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d°	d°
— + Azotate	d°	d°
— + Sulfate	d°	d°
— + Phosphate	d°	d°

b) *Hexoses.*

Glucose + Carbonate	{ Pas de développ ^t . Pas de coloration.	Bon développ ^t . Coloration verte très nette.
-------------------------------	--	--

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE non minéralisée	SUR GÉLOSE minéralisée
Glucose + Chlorhydrate	{ Pas de coloration. d°	Bon développ ^t . Pas de coloration.
— + Sulfate	{ d°	Bon développ ^t . Très légère color.
— + Azotate	{ d°	Bon développ ^t . Coloration verte.
— + Phosphate	{ d° d°	Bon développ ^t . Color. jaune verd.
Galactose + Carbonate	{ Pas de développ ^t . Pas de coloration.	Pas de développ ^t . Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d°	d°
— + Sulfate	d°	d°
— + Azotate	d°	d°
— + Phosphate	d°	d°
Mannose + Carbonate	{ Pas de développ ^t . Pas de coloration.	Pas de développ ^t . Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d°	d°
— + Sulfate	d°	d°
— + Azotate	d°	d°
— + Phosphate	d°	d°
Lévulose + Carbonate	{ Pas de développ ^t . Pas de coloration.	Bon développ ^t . Coloration verte très nette.
— + Chlorhydrate	{ d° d°	Bon développ ^t . Pas de coloration.
— + Sulfate	{ d° d°	Bon développ ^t . Légère col. verte.
— + Azotate	{ d° d°	Bon développ ^t . Coloration verte.
— + Phosphate	{ d° d°	Bon développ ^t . Color. jaune verd.

III. — CULTURES EN PRÉSENCE DE SELS AMMONIACAUX MINÉRAUX ET DE POLYSACCHARIDES.

1° BIOSES.

a) *Pento-hexobioses.*

Primevérose + Carbonate	{ Pas de développ ^t . Pas de coloration.	Pas de développ ^t . Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d°	d°
— + Sulfate	d°	d°
— + Azotate	d°	d°
— + Phosphate	d°	d°

b) *Hexobioses.*

Saccharose + Carbonate	{ Pas de développ ^t . Pas de coloration.	Cult ^{re} très maigre; Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d°	d°
— + Sulfate	d°	d°
— + Azotate	d°	d°
— + Phosphate	d°	d°

AMMONIAQUE	SUR GÉLOSE non minéralisée	SUR GÉLOSE minéralisée
Lactose + Carbonate	{ Pas de développ. Pas de coloration.	Cult ^{re} très maigre. Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d ^o	d ^o
— + Sulfate	d ^o	d ^o
— + Azotate	d ^o	d ^o
— + Phosphate	d ^o	d ^o
Maltose + Carbonate	{ Pas de développ. Pas de coloration.	Cult ^{re} très maigre. Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d ^o	d ^o
— + Sulfate	d ^o	d ^o
— + Azotate	d ^o	d ^o
— + Phosphate	d ^o	d ^o

2^o TRIOSES.*Hexotrioses.*

Raffinose + Carbonate	{ Pas de développ. Pas de coloration.	Très légère cult ^{re} . Pas de coloration.
— + Chlorhydrate	d ^o	d ^o
— + Sulfate	d ^o	d ^o
— + Azotate	d ^o	d ^o
— + Phosphate	d ^o	d ^o

En résumé on peut dire que, d'une manière générale, les alcools polyatomiques, sauf la glycérine et la mannite, mis en présence des sels ammoniacaux minéraux, sont de mauvais aliments pour le bacille pyocyanique.

Parmi les monoses, seuls le glucose et le lévulose sont de bons aliments.

Les polysaccharides (bioses et trioses) sont de très mauvais aliments, le bacille ne renfermant probablement pas de diastase pouvant dédoubler ces sucres. M. Aubel avait déjà constaté le même fait (1).

Il y a production de pyocyanine avec les substances suivantes : glycérine, mannite, glucose, lévulose, additionnées de carbonate ou d'azotate d'ammoniaque.

La mannite peut être attaquée, mais en présence de substances capables de donner de l'ammoniaque, pouvant se combiner avec les acides provenant de l'oxydation de cette mannite. Employée seule, elle ne peut servir d'aliment comme l'avait déjà indiqué Aubel (2).

(1) E. AUBEL. *Loc. cit.*, p. 11.(2) *Id.*, p. 18.

On obtient des cultures assez riches sur les milieux contenant glycérine, mannite, glucose, lévulose et les sels tels que sulfate, phosphate, chlorhydrate. La pyocyanine apparaît sur ces milieux d'une façon inconstante et très irrégulière, quelquefois avec le phosphate et le sulfate ; elle n'apparaît jamais avec le chlorhydrate. Les expériences positives sont d'ailleurs assez rares.

CINQUIÈME PARTIE

EXPOSÉ CRITIQUE DES RÉSULTATS OBTENUS

Il reste maintenant à envisager s'il ne serait pas possible par la comparaison de tous les faits acquis, par le rapprochement de certains résultats, de condenser en une synthèse tous les phénomènes constatés afin de faire ressortir les conditions biologiques nécessaires au développement du bacille pyocyanique et à la production de son pigment.

Les résultats obtenus par les essais de nutrition du bacille pyocyanique sur les milieux contenant des sels ammoniacaux minéraux, additionnés de sucres, nous ont suggéré l'idée que les *sels ammoniacaux à acides organiques seuls* étaient un aliment nécessaire au développement du microbe et indispensable à la production de la pyocyanine.

En admettant cette hypothèse, tous les faits précédents s'expliquent très facilement.

Lorsque l'on cultive le bacille pyocyanique sur glucose, lévulose, glycérine ou mannite, il s'y développe modérément, mais on ne connaît pas les modifications qu'il a fait subir à la molécule sucrée. On peut toutefois constater que si l'on fait cette culture sur gélose minéralisée, additionnée de tournesol, celle-ci vire au rouge, preuve de la production d'acides. Le virage est surtout accentué pour le glucose, qui doit peut-être donner une plus grande quantité de ces acides.

Vourloud (1) avait déjà constaté, en cultivant le bacille pyo-

(1) VOURLOUD (de Lausanne), Action de quelques bactéries sur les hydrates de carbone et le lait tournesolé (mém. en français). *Centr. für Bakt.*, 45, p. 498, 1908.

cyanique sur agar tournesolé à 2 p. 100 et sucré à 1 p. 100, que le milieu virait avec la glycérine, le xylose, l'arabinose, le galactose; il restait bleu avec le lévulose, le glucose et le maltose.

Reprenant ces essais, en modifiant toutefois la technique de stérilisation des sucres, Aubel (1) a obtenu des résultats ne concordant pas absolument avec ceux de Vourloud : pas d'attaque des bioses, du maltose notamment, tandis que le glucose, le lévulose et la glycérine étaient attaqués. L'étude plus spéciale de l'action du bacille pyocyanique sur les sources carbonées lui a permis d'établir, en outre, que les acides provenant de la transformation du glucose sont vraisemblablement constitués par un mélange d'acides formique et acétique; ceux qui proviennent du lévulose seraient également formés par le mélange des mêmes acides avec, en outre, de l'acide lactique; la glycérine fournirait également les acides formique et acétique.

Les acides organiques ainsi formés s'unissent au carbonate d'ammoniaque, ajouté au milieu, pour donner le sel ammoniacal nécessaire à la production de la pyocyanine.

Avec l'azotate, il y a une action du même genre, le bacille pyocyanique est un dénitrifiant énergique, ainsi que l'ont déjà signalé Weissenberg (2), puis Wolf (3) et c'est pourquoi Grimbert (4) le classe parmi les ferments dénitrifiants directs; si on le cultive en milieu aqueux contenant de l'azotate de potasse ou de l'ammoniaque et un sucre, on ne tardera pas à constater que le liquide donne la réaction des nitrites, la réaction peut être menée jusqu'au terme ammoniacal. Dans ces conditions, il y a formation de sels ammoniacaux avec les acides provenant des sucres et par suite production de pyocyanine.

Les résultats constatés avec le phosphate, le sulfate et le chlorhydrate pourraient s'expliquer par ce fait que ces différents acides sont dans un état plus ou moins grand de dissociation et que, dans ces conditions, il peut se former un double échange, avec formation de sel ammoniacal organique qui

(1) E. AUBEL. *Loc. cit.*, p. 10.

(2) WEISSENBERG, Studien über Denitrification. *Archiv für Hyg.*, 30, p. 274, 1897.

(3) WOLF. *Centralbl. f. Bakt.*, 2. Abt., 5, p. 682, 1899, et 6, p. 160, 1899, cité par Grimbert dans le mémoire ci-dessous (note 4).

(4) L. GRIMBERT, Les bactéries dénitrifiantes et le mécanisme de la dénitrification. *Bull. Inst. Pasteur*, 2, 942, 1904.

pourra alors intervenir. La réaction devra particulièrement mieux se faire avec le sucre susceptible de donner le plus d'acides, par conséquent avec le glucose. De là les résultats inconstants que l'on observe dans les essais de culture du bacille en présence du phosphate, du sulfate et des matières sucrées.

En présence du chlorhydrate les réactions de coloration se sont toujours montrées négatives, fait dont l'explication rationnelle nous échappe actuellement.

Si cette opinion est exacte, on a plusieurs moyens de la contrôler.

Tout d'abord il suffira de préparer un *milieu sucré et d'y ajouter de l'ammoniaque* pour que la réaction puisse se produire. On disposera alors l'expérience suivante : à des tubes de gélose minéralisée, additionnée de substances hydrocarbonées : glucose, lévulose, glycérine, mannite, on ajoutera de l'ammoniaque N/10 dans une proportion telle que le liquide renferme 0,0055 d'ammoniaque (1).

La solution sera ajoutée lorsque les tubes de gélose seront sur le point de se solidifier. On les bouchera bien pour éviter l'évaporation de l'ammoniaque. Dès que la gélose inclinée sera refroidie, ces tubes seront ensemencés et portés à l'étuve réglée à 35-36°, de façon à diminuer l'évaporation de l'ammoniaque.

La quantité d'ammoniaque pure, ajoutée à chaque milieu, correspondait à 0 gr. 0055 d'ammoniaque; celle de substance hydrocarbonée était X gouttes de solution à 2 p. 100.

CULTURES EN PRÉSENCE D'HYDRATES DE CARBONE ET D'AMMONIAQUE PURE.

On a obtenu les résultats suivants :

Sur gélose minéralisée additionnée de Glucose . .				{ Culture abondante. Coloration verte très faible.
—	—	Lévulose .	d°	
—	—	Mannite . .	d°	
—	—	Glycérine .		{ Pas de modification du milieu.

(1) La quantité d'ammoniaque devrait être 0 gr. 011 pour se placer dans les conditions précédemment réalisées, mais en opérant ainsi le milieu serait trop alcalin et c'est pourquoi cette dose a été réduite de moitié.

On constate avec le glucose, le lévulose ou la mannite un développement lent du micro-organisme, mais au bout de quatre jours on observe une teinte légèrement verdâtre et au bout de cinq jours une coloration verte très nette.

Il a fallu un certain temps au microbe pour se développer et produire l'acide nécessaire à la neutralisation de l'ammoniaque, mais une fois le sel formé, la production de pyocyanine s'est accentuée rapidement.

Il est, en outre, un autre moyen de contrôle, c'est l'expérience relatée dans nos essais de nutrition *avec les amides en présence d'hydrates de carbone*. On a vu que dans ces conditions l'urée et l'acétamide donnaient une coloration verte; ce fait n'a rien d'extraordinaire avec l'acétamide qu'il est très difficile d'obtenir pur et qui, même en cet état, se transforme assez rapidement en acétate d'ammoniaque, ramenant ainsi au cas général.

Il reste à expliquer la réaction positive avec l'urée. Or le bacille pyocyanique renferme de l'uréase : si l'on délaie dans une solution d'urée le raclage d'un tube de culture de bacille pyocyanique, le liquide ne tarde pas à devenir de plus en plus alcalin par production de carbonate d'ammoniaque.

De sorte que le cas est analogue à celui des cultures de bacille pyocyanique en présence d'hydrates de carbone et de carbonate d'ammoniaque dans lesquelles la production d'un sel ammoniacal organique peut se réaliser. S'il en est ainsi, parmi les amides, seule l'urée est susceptible de produire la pyocyanine en présence des hydrates de carbone et parmi ceux-ci le glucose, le lévulose, la glycérine, la mannite peuvent être utilisés.

Nous avons alors disposé les expériences suivantes, en ajoutant aux milieux envisagés les mêmes quantités d'urée et d'hydrates de carbone que dans les essais effectués avec chacune de ces substances prise isolément.

CULTURES EN PRÉSENCE D'URÉE ET D'HYDRATES DE CARBONE.

	SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE	SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
Urée	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="font-size: 2em; margin-right: 5px;">{</div> <div> Pas de développement. Coloration nulle. </div> </div>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="font-size: 2em; margin-right: 5px;">{</div> <div> Pas de développement. Pas de coloration. </div> </div>

SUR GÉLOSE NON MINÉRALISÉE		SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
Glucose + urée.	Très. maigre développement. Teinte à peine bleutée.	Bon développement. Coloration verte nette.
Lévéulose + urée	d°	d°
Glycérine + urée	d°	d°
Mannite + urée.	d°	d°
Dulcité + urée .	d° d°	Très maigre développem ^t . Pas de coloration.
Saccharose	Pas de développement.	d°
+ urée.	Pas de coloration.	d°
Lactose + urée.	d°	d°
Maltose + urée .	d°	d°

Le glycocolle se comporte comme l'urée; employé seul il ne donne pas de pyocyanine; additionné de glucose, lévulose, glycérine ou mannite, la coloration apparaît. Il faut donc en conclure que la fonction amine n'a pas servi et qu'il y a eu, comme dans le cas de l'urée, formation de sels ammoniacaux.

Ceci nous conduit à admettre que ce n'est pas la fonction amine de l'acide aminé qui intervient, mais la fonction sel ammoniacal qui se produit au cours du développement du microbe, celui-ci prenant le groupe NH^2 pour produire de l'ammoniaque qui se transporte à l'extrémité de la chaîne pour former le sel ammoniacal nécessaire. Ainsi dans l'alanine $\text{CH}^3 - \text{CH}(\text{NH}^2) - \text{COOH}$ il y aura transport du groupe NH^2 et formation probable de lactate d'ammoniaque $\text{CH}^3 - \text{CHOH} - \text{COONH}^4$ ou encore de propionate d'ammoniaque $\text{CH}^3 - \text{CH}^2 - \text{CO}^2\text{NH}^4$ ou de pyruvate d'ammoniaque $\text{CH}^3 - \text{CO} - \text{CO}^2\text{NH}^4$; de même l'acide aspartique $\text{COOH} - \text{CH}^2 - \text{CH}(\text{NH}^2) - \text{COOH}$ donnerait l'aspartate d'ammoniaque puis le succinate d'ammoniaque $\text{CO}^2\text{NH}^4 - \text{CH}^2 - \text{CH}^2 - \text{CO}^2\text{NH}^4$. Si cette hypothèse est exacte, on peut assez facilement la contrôler. Il suffira dans la molécule de l'acide aminé $\text{R} - \text{CH} - \text{COOH}$ de bloquer le



groupe acide par un alcali fort pour que les réactions avec les acides aminés deviennent négatives; on aura ainsi la preuve que c'est la fonction sel ammoniacal qui intervient et non la fonction amine.

Nous pourrions d'autant mieux le prouver que si nous employons les sels sodés des amino-acides en présence du glucose, du lévulose, de la glycérine ou de la mannite, on

devra avoir cette fois une réaction positive par suite de la formation d'un sel ammoniacal aux dépens des acides formés des sucres et non plus de l'acide provenant de l'acide aminé.

Cette expérience est assez délicate à réaliser. Nous avons voulu tout d'abord nous rendre compte si le bacille pyocyanique se développait en milieu fortement alcalin. C'est qu'en effet la neutralisation de la fonction acide d'un acide aminé donne un corps très alcalin.

Nous avons donc pris du succinate d'ammoniaque auquel nous avons ajouté une quantité d'ammoniaque telle que l'alcalinité correspondait à celle de l'alanine sodée par exemple.

Dans ces conditions voici les résultats obtenus :

SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE

Milieu au succinate d'ammoniaque alcalinisé de telle sorte que l'alcalinité corresponde à celle des milieux contenant un acide monoaminé sodé (solution à 1/10).	X gouttes.	<div> <div></div> <div>Bon développement.</div> <div>Coloration verte.</div> </div>
--	------------	---

Ensuite nous avons procédé à la neutralisation exacte des acides aminés. Dans les premiers essais nous n'avions pas ajouté la quantité suffisante de soude pour bloquer le groupe COOH, par crainte d'une alcalinité trop excessive, et nous avons obtenu des résultats positifs mais très retardés. Dans une seconde série d'expériences nous avons opéré très exactement avec une solution titrée normale de soude et la neutralisation théorique faite, nous avons ajouté 1/10 de cent. cube de soude normale en plus, pour être certain d'une neutralité complète.

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

CULTURES EN PRÉSENCE D'ACIDES MONO-AMINÉS NEUTRALISÉS.

SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE

Glycocolle sodé	(exactement neutralisé)	<div> <div>Pas de développement.</div> <div>Pas de coloration.</div> </div>
— + Glucose	—	—	<div> <div>Bon développement.</div> <div>Coloration verte nette.</div> </div>
— + Lévilose	—	—	d°
— + Mannite	—	—	d°
— + Glycérine	—	—	d°

SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE

Alanine sodée (exactement neutralisée)						Pas de développement. Pas de coloration.
— + Glucose — —						Bon développement. Coloration verte nette.
— + Léulose — —						d°
— + Glycérine — —						d°
— + Mannite — —						d°
Leucine sodée (exactement neutralisée)						Pas de développement. Pas de coloration.
— + Glucose — —						Bon développement. Colorat. verte intense.
— + Léulose — —						d°
— + Glycérine — —						d°
— + Mannite — —						d°
Asparagine sodée (exact. neutralisée).				V gouttes. X gouttes.		Pas de développement. Pas de coloration.
— + Glucose — —						Bon développement. Coloration verte.
— + Léulose — —						d°
— + Glycérine — —						d°
— + Mannite — —						d°
Acide aspartique l. sodé (exactement neutralisé)..						Pas de développement. Pas de coloration.
— + Glucose — —						Bon développement. Coloration verte nette.
— + Léulose — —						d°
— + Glycérine — —						d°
— + Mannite — —						d°

Nous pouvons encore invoquer à l'appui de cette hypothèse que la fonction amine n'intervient que pour la formation d'un sel ammoniacal en rapportant l'expérience faite avec l'asparagine dont la fonction NH_2 est bloquée par l'acide chlorhydrique. Dans ces conditions le groupe azoté de l'amine ne peut plus être utilisé par le microbe et les résultats deviennent négatifs. C'est ce que confirment nos expériences faites en ajoutant des quantités croissantes de chlorhydrate d'asparagine pour éviter de donner au milieu une acidité trop forte.

CULTURES EN PRÉSENCE DE CHLORHYDRATE D'ASPARAGINE.

SUR GÉLOSE MINÉRALISÉE
Après 3 jours d'étuve

Chlorhydrate d'asparagine + V gouttes.						Pas de développement. Pas de coloration.
— — + X —						
— — + XV —						

Ce rôle de l'asparagine intervenant comme sel ammoniacal avait déjà été entrevu par Arnaud et Charrin (1) qui, les premiers, ont donné une explication de la transformation bactérienne de l'asparagine, par désamidation.

D'autre part, A. Blanchetière (2), étudiant le mécanisme de la dégradation de cette substance, en présence du bacille fluorescent, voisin du bacille pyocyanique, a montré qu'il y avait désamination et formation de sel ammoniacal.

Enfin Aubel (3) dans la dégradation de l'asparagine par le bacille pyocyanique a trouvé parmi les principaux termes de passage, entre l'amide et l'acide carbonique, les acides fumariques, maliques, succiniques, propioniques, maloniques, acétiques et formiques susceptibles de donner des sels ammoniacaux.

Les expériences sur les amines et les acides aminés nous conduisent à envisager *le rôle de l'albumine comme substance nutritive du microbe*.

Les matières albuminoïdes sont en effet formées d'acides aminés qui en se condensant les uns avec les autres créent des fonctions amides. Il en résulte que les matières albuminoïdes pures, c'est-à-dire sans traces d'éléments étrangers, devraient donner un résultat négatif.

Nous avons essayé de réaliser ces conditions.

A cet effet nous avons dialysé sur sacs de collodion non riciné du sérum de cheval recueilli aseptiquement. Ces sacs mesuraient 12 cent. cubes de longueur et plongeaient dans de l'eau stérile. Montés sur tubes de verre ils étaient maintenus par un tampon de coton dans le goulot du flacon contenant l'eau, sans en toucher le fond, baignant ainsi dans le liquide sur les 2/3 environ de leur hauteur. Le sérum à dialyser ayant été introduit avec précaution dans le sac, on a laissé le tout en contact pendant vingt-quatre heures à l'expiration desquelles le sac a été remplacé, dans les mêmes condi-

(1) A. ARNAUD et A. CHARRIN, Recherches chimiques sur les sécrétions microbiennes. Transformation et élimination de la matière organique azotée par le bacille pyocyanique dans un milieu de culture déterminée. *C. R. Acad. Sc.*, 112, p. 755, 1891.

(2) A. BLANCHETIÈRE, Action du bacille fluorescent liquéfiant de Flüge sur l'asparagine en milieu chimiquement défini (2^e mémoire), produits et mode d'attaque de l'asparagine. *Ann. Inst. Pasteur*, 34, p. 392, 1920.

(3) E. AUBEL. *Loc. cit.*, p. 40-93.

tions, en présence d'une nouvelle quantité d'eau. L'opération a été renouvelée deux fois consécutives à vingt-quatre heures d'intervalle.

On a ainsi obtenu, d'une part, un dialysat et d'autre part un liquide albumineux non dialysé. Le premier a été évaporé à sec et repris par l'alcool à 95° chaud. Celui-ci a laissé une partie insoluble. La solution alcoolique a été évaporée à sec et le résidu repris par quelques centimètres cubes d'eau. Ce liquide est ajouté à des tubes de gélose minéralisée.

D'autre part, le contenu opalescent du sac, recueilli dans une fiole stérile, a été additionné de quelques gouttes de solution de chlorure de sodium à 20 p. 100, puis d'une même quantité de gouttes de solution de phosphate de soude à 10 p. 100 pour éclaircir le liquide. On a ensuite réparti en tubes stériles et coagulé au bain-marie en tubes couchés.

Avec une anse de platine chargée de colonies microbiennes provenant d'une culture luxuriante sur succinate d'ammoniaque on aensemencé :

- 2 tubes de gélose additionnée du dialysat;
- 2 tubes d'albumine du sérum coagulée et dialysée;
- 2 tubes d'albumine du sérum coagulée, additionnée de liquide de dialysat.

On a constaté après vingt-quatre heures d'étuve une coloration verte des premiers et après quarante-huit heures une coloration verte des troisièmes; quant aux tubes de la deuxième série, la coloration, puis la dissolution de l'albumine ne se sont manifestées qu'au bout de quatre ou cinq jours. Il est probable que, malgré la dialyse prolongée, il restait encore une trace de cette substance, de ce *primum movens*, qui a permis au microbe de se développer et d'attaquer alors l'albumine.

Nous avons essayé de pratiquer le même essai de dialyse sur la peptone, espérant pouvoir séparer d'une part les substances dialysables capables de produire la pyocyanine et les substances non dialysables qui n'auraient donné aucun résultat. Nous n'avons obtenu qu'un résultat peu net. Certes le liquide dialysé donne bien une coloration plus rapide et plus intense, mais dans cette question l'appréciation étant très difficile il est préférable de n'en pas tenir compte.

La démonstration serait encore plus concluante si nous

avons pu nous procurer un polypeptide de synthèse assez condensé. Nous avons la conviction que très probablement ce polypeptide se fût montré inactif.

N. B. — Cependant dans un essai effectué en présence de *leucine-glycine* (substance plus voisine des acides aminés que des composés albuminoïdes), obligeamment mise à notre disposition par M. le D^r Guggenheim, on a constaté un bon développement du microbe et la production d'une coloration verte très nette.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les résultats qui se dégagent de ces recherches sont les suivants :

I. La présence d'un sel ammoniacal est nécessaire à la formation du pigment pyocyanique. La nature de l'acide salifié par l'ammoniaque n'est pas indifférente.

II. La formation du pigment dans un milieu non additionné de sel ammoniacal peut avoir lieu si les modifications apportées par la culture même au milieu nutritif se traduisent par la formation de sel ammoniacal.

III. La présence d'un sel ammoniacal n'est pas seulement *nécessaire* à la formation du pigment ; elle est, du moins pour certains acides, *suffisante*.

On peut exposer de la façon suivante les faits particuliers qui appuient les conclusions précédentes :

A. — 1^o Les sels d'acides gras monobasiques suivants (acétique, propionique, butyrique, valérianique, caproïque) ont été favorables au développement du microbe et à la production de pyocyanine.

2^o L'acide formique s'est toujours montré un aliment défavorable à tous points de vue.

3^o L'acide isocaproïque, contrairement à son isomère l'acide caproïque, ne donne pas lieu à la formation de pyocyanine, ce qui peut permettre de différencier un mélange de ces deux acides renfermant une petite quantité d'acide caproïque.

4^o Les sels d'acides gras monobasiques à fonction éthylé-

nique se sont montrés inactifs, à l'exception toutefois de l'acide sorbique qui est un aliment favorable.

5° Les sels d'acides aromatiques monobasiques se sont montrés de mauvais aliments.

B. — 1° Les sels des acides bibasiques, de la série succinique, sont tous actifs, sauf le premier terme : l'acide oxalique.

2° Parmi les sels des acides bibasiques à double liaison éthylénique, seuls les sels des acides en position *trans* favorisent la production du pigment, tandis que ceux des acides en position *cis* ne le donnent pas sur un milieu gélosé minéralisé.

3° Les sels des acides aromatiques bibasiques ne peuvent pas servir d'aliment.

C. — 1° Parmi les sels des acides à fonctions complexes, les sels des acides monobasiques à fonction alcool sont de bons aliments et de bons producteurs de pyocyanine, ainsi que l'acide pyruvique (acide cétonique).

2° Les acides phénoliques ont donné un résultat négatif.

3° Les sels des acides bibasiques à fonction alcool ne semblent agir que lorsqu'il reste des atomes de carbone ne supportant pas de groupement oxhydrile.

Si cette substitution existe sur tous les atomes de carbone, il ne se manifeste ni développement de colonies, ni production de pigment.

4° L'isomérisie optique ne semble pas jouer un rôle comparable à celui que nous avons observé pour les acides gras bibasiques à fonction éthylénique stéréo-isomères.

D. — 1° Les amines, à l'état de chlorhydrates, ne peuvent pas servir à la nutrition du bacille pyocyanique, même en présence d'hydrates de carbone, et par conséquent sont impropres à la production de la pyocyanine.

2° Les amides seules ou en présence d'hydrates de carbone ne peuvent pas servir à la nutrition du bacille pyocyanique; il n'y a d'exception que pour l'urée, mais parce que celle-ci se transforme en carbonate d'ammoniaque qui, se combinant aux acides organiques provenant de la destruction des sucres, conduit à la production d'un sel ammoniacal, ce qui ramène alors au cas précédent.

3° Les acides aminés sont de moins bons aliments que les sels ammoniacaux. Le glycocolle, premier terme de la série, n'agit pas seul mais, en présence d'hydrates de carbone, il favorise la production du pigment.

4° Parmi les acides aminés, la tyrosine s'est montrée défavorable.

Dans cette action sur les acides aminés, le microbe donne par désamination, d'abord de l'ammoniaque qui se transporte sur la fonction acide en donnant le sel ammoniacal utile. Si la fonction acide est bloquée, la réaction ne se fait plus, mais elle peut se produire si on y ajoute un sucre ou des alcools polyatomiques donnant des acides par décomposition de la molécule; dans ces conditions, l'ammoniaque se porte sur l'acide ainsi formé et l'acide aminé ne sert plus qu'à la formation d'un sel ammoniacal.

E. — Les sels ammoniacaux minéraux, employés seuls, ne peuvent pas servir à la nutrition du micro-organisme. Il en est de même pour les hydrates de carbone (monoses, trioses, polyoses et alcools polyatomiques) et il n'y a pas production de pigment.

Le mélange des hydrates de carbone et des alcools polyatomiques avec les sels ammoniacaux minéraux ne peut servir que pour deux alcools polyatomiques : la glycérine et la mannite, et pour deux hexoses : le glucose et le lévulose, et seulement en présence de nitrate et de carbonate. C'est la présence simultanée de corps qui peuvent s'oxyder pour donner des acides et des sels susceptibles de fournir de l'ammoniaque ou du carbonate d'ammoniaque qui permet la production de pyocyanine par formation d'un sel organique ammoniacal.

Les bioses et les polyoses pouvant donner par dédoublement du glucose ou du lévulose ne sont pas attaqués.

F. — L'albumine semble être un mauvais aliment pour le microbe qui peut-être ne se développerait pas sur ce milieu, si cette substance ne contenait pas un ou plusieurs acides aminés, un ou plusieurs sels ammoniacaux, en un mot un *primum movens* capable d'assurer le développement initial du microbe qui peut alors attaquer l'albumine pour engendrer les substances nécessaires à sa nutrition.

LE TRAITEMENT DE LA MALADIE DU SOMMEIL PAR L'ATOXYL

SA RÉGLEMENTATION

par les D^{rs} OUZILLEAU et LEFROU.

L'atoxyl est devenu et est resté le médicament d'usage courant dans le traitement de la trypanosomiase. Cependant l'accord n'est pas encore fait sur la façon de l'employer. Les membres de la Commission de la maladie du sommeil réunis en juillet 1920 préconisent « les doses de 0,50 tous les cinq jours en intercalant des injections intraveineuses d'émétique « *ad libitum* par séries, à la dose de 8 à 10 centigrammes. Chez « l'indigène, si ce traitement ne peut être suivi, on injectera « l'atoxyl à doses espacées et massives de 0,75 à 1 gramme « chez l'adulte » (1).

D'un autre côté, Broden et Rodhain (2), en 1921, concluent à l'insuffisance du traitement au moyen des doses de 0,50 tous les cinq jours, et à la supériorité des doses hebdomadaires de 1 gramme sous condition que celles-ci soient réservées aux malades de la première période.

Dans la pratique courante, chaque médecin adopte soit la méthode des doses fortes, soit la méthode des doses faibles et continues, soit une méthode mixte, suivant la tendance personnelle de son esprit.

Il nous a semblé opportun de mettre à profit la riche documentation que possède, en la matière, l'Institut Pasteur de Brazzaville, de comparer entre eux les résultats obtenus à l'aide des différentes méthodes, et, notre expérience personnelle aidant, d'établir enfin sur des bases fermes les règles qui nous

(1) Notice sur la prophylaxie de la maladie du sommeil. *Bull. Pathol. exot.*, 7 juillet 1920.

(2) L'atoxyl dans le traitement de la trypanose humaine. *Annales de la Société belge de médecine tropicale*, mai 1921.

paraissent devoir guider actuellement la thérapeutique atoxylique.

Avant d'entrer dans la critique des différentes méthodes (par doses faibles, par doses moyennes, par doses fortes d'atoxyl), il importe de faire remarquer qu'assez souvent l'émétique est entré à titre d'adjuvant dans le traitement atoxylique.

Employé toujours dans des conditions identiques (de 0,05 à 0,10 suivant le poids du malade), on ne devra lui accorder aucune part dans la différence des résultats obtenus par l'emploi des doses faibles d'atoxyl d'une part, des doses fortes d'autre part : celle-ci devra être uniquement rapportée au seul facteur variable, l'atoxyl (1).

TRAITEMENT DE LA MALADIE DU SOMMEIL A LA PREMIÈRE PÉRIODE

A. — Essai de traitement au moyen des doses faibles.

Nous appelons ainsi les doses correspondant généralement à moins de 0 gr. 01 par kilogramme de poids du malade : elles oscillent entre 0 gr. 30 pour les enfants et 0 gr. 50 pour les adultes.

La méthode des doses faibles s'est fait jour dès la mise en pratique de l'atoxyl à la suite des accidents dus à l'emploi de doses trop élevées, trop fréquemment renouvelées ou administrées à des malades trop avancés. A côté du coefficient de toxicité absolu d'une substance, il y a lieu de toujours tenir compte du coefficient de toxicité relatif qui varie avec l'état du malade et qui s'élève à mesure que cet état baisse. C'est en ne

(1) Il convient de rappeler ici le caractère peu stable de la stérilisation obtenue par l'émétique seul. Cette substance n'est d'ailleurs recommandée qu'en association avec l'atoxyl. On l'a utilisée ainsi avec profit dans les cas d'atoxilo-résistance (L. Martin). En Afrique Equatoriale Française, on ne l'emploie plus que par mesure d'extrême sécurité et parce qu'il permet de surajouter, sans risques, son action à celle de l'atoxyl. C'est ainsi qu'à Brazzaville, où certains malades se présentent régulièrement tous les sept jours, nous trouvant dans l'impossibilité de leur faire, à chaque visite hebdomadaire, les injections fortes d'atoxyl dont on se sert exclusivement à l'heure actuelle pour le traitement de la première période, on les alterne avec des injections d'émétique. Dans la pratique de la brousse, l'émétique est inutilisé et inutilisable.

prenant pas assez en considération le degré de l'affection où en étaient arrivés ses premiers trypanosomés traités que Koch observa les accidents d'intoxication et de cécité qu'il relata en 1907 (4). A partir de cette époque il préconisa d'injecter 0,50 d'atoxyl deux jours consécutifs tous les dix jours pendant une période de quatre mois au moins. En Afrique équatoriale française on simplifia cette méthode qui était d'une application difficile à Brazzaville même et tout à fait impossible dans la pratique de brousse et on se contenta d'injecter une dose de 0,50 tous les sept jours chez les indigènes ou tous les cinq jours chez les Européens.]

Quels ont été les résultats obtenus par cette méthode ? Les *Archives de l'Institut Pasteur de Brazzaville* (1914-1915-1916) fournissent une réponse très expressive.

Parmi les malades qui ont été suivis, tous ont dû être traités à nouveau en raison de rechutes, sauf un qui vit encore à Brazzaville et qui peut être considéré comme guéri, encore que son cas ne rentre pas tout à fait dans cette catégorie puisqu'il reçut de janvier à juin 1914, pour un poids de 46 kilogrammes, 2 doses d'atoxyl à 0,50 (supérieures donc à 0,01 par kilogramme) et 8 doses à 0,30. En regard de cet unique succès on relève autant d'échecs qu'il y a d'essais sur 39 observations recueillies.

A titre d'exemple, nous citerons quelques observations :

OBSERVATION. — Tiss... (70 kilogrammes), qui, reconnu trypanosomé le 13 janvier 1914, reçoit entre cette date et le 22 juin, soit en l'espace de cinq mois, 11 atoxyl à 0,30 et 10 atoxyl à 0,50. Le malade rechute cinquante jours après la dernière injection (17 août 1914). On lui fait, du 17 août 1914 au 25 janvier 1915, 11 atoxyl à 0,30, 2 néo à 0,30, 1 néo à 0,60. Il fait une seconde rechute le 11 février 1915, soit vingt jours après la cessation du traitement.

M. D...d (63 kilogrammes) est reconnu trypanosomé le 25 novembre 1911. Il est rapatrié et traité à l'Institut Pasteur de Paris à doses de 0,50 tous les cinq jours, puis, revenu à Brazzaville en février 1914, reçoit encore jusqu'au 11 septembre de cette même année une série de 25 atoxyl à 0,50. Le 22 septembre, soit six jours après la dernière injection, M. D...d présente des trypanosomes dans le sang et est rapatrié.

M. R...o (66 kilogrammes), reconnu trypanosomé le 4 décembre 1919, reçoit, entre cette date et le 12 mars 1920, 19 atoxyl à 0,50 et 18 émétique à 0,10. Le 23 septembre 1920, soit six mois après la cessation du traitement, il présente

(4) *Deutsche med. Woch.*, novembre 1907.

des trypanosomes dans les ganglions et dans le sang, des trypanides sur le tronc et les membres. Nous le soumettons au traitement par les doses fortes de néosalvarsan (3 doses de 0,60 à 0,90 et 4 doses de 1 gramme à 1 gr. 15) pendant deux mois (23 septembre-19 novembre 1920). Le 4 septembre 1921, neuf mois après la cessation du traitement, le malade était encore parfaitement stérilisé.

T...e (65 kilogrammes) est reconnu trypanosomé le 17 février 1916. On lui administre jusqu'au 29 mai de la même année 1 néo à 0,30, 2 atoxyl à 0,30, 9 à 0,50, 1 à 0,60, 3 émétiques à 0,10. Le 17 juillet 1916, soit cinquante jours après la cessation du traitement, on constate la présence de trypanosomes dans le sang.

Il ressort de la lecture de toutes les observations que les rechutes se déclarent généralement d'une façon précoce : sur 38 rechutes, on n'en note que 8 au delà de douze mois après la cessation du traitement ; toutes les autres, soit 30, se sont produites dans la première année : 29 avant le septième mois, au soixante-seizième jour en moyenne, et une seule entre sept et douze mois.

Le traitement par doses faibles a donné si peu de sécurité que la plupart du temps on s'est vu forcé de ne jamais l'interrompre à seule fin d'éviter les rechutes. On pensait que les malades y devaient rester soumis jusqu'à la mort.

Il nous a été donné de suivre quelques Européens qui suivaient ce traitement depuis de longs mois ; tous présentaient des troubles d'intoxication chronique (surcharge graisseuse, sensation de fourmillements au niveau des extrémités, œdème de la face, crises d'insomnie) et nous avons dû, dans deux occasions, faire suspendre cette médication qui, dans un cas, durait depuis sept ans !

Évidemment, vu le maintien de l'organisme en constant état d'imprégnation arsenicale, les examens pratiqués entre les injections très rapprochées ne permettent pas de déceler la présence des trypanosomes et, chez les deux malades en question, les centrifugations étaient négatives ; reste à savoir s'ils étaient définitivement stérilisés, et ce que produit la suspension du traitement dans ces cas.

M. M... qui a reçu une dose initiale de 1 gramme d'atoxyl pour un poids de 77 kilogrammes et qui a absorbé depuis 1914 une moyenne de 20 grammes d'atoxyl par an en doses de 0.50 a interrompu tout traitement depuis seize mois (juin 1920) : le poids qui à cette date s'était élevé à 97 kilogrammes est tombé à 90 kilogrammes ; la bouffissure a disparu, l'appétit est devenu

meilleur; la centrifugation du sang est négative, le liquide céphalo-rachidien ne révèle aucune réaction méningée.

Il y a donc tout lieu d'espérer que pour les malades qui sont à même de supporter une cure arsenicale de pareille durée la guérison puisse s'ensuivre. Mais ce traitement est véritablement trop décourageant et assujettissant pour le malade, il offre d'autre part trop de risques d'arsenicisme pour qu'on puisse le recommander (Voir plus haut l'observation de M. D....d).

B. — Essai de traitement au moyen des doses moyennes.

Nous appelons ainsi les doses correspondant approximativement à 0,01 ou dépassant légèrement 0,01 par kilogramme de poids du malade : elles oscillent dans la pratique entre 0,50 et 0,75 d'atoxyl.

Beaucoup de malades furent traités par ces doses au cours des années 1916, 1917, 1918, 1919; le traitement était continu : il débutait en première année par une série d'injections hebdomadaires, les injections d'atoxyl alternant avec les injections d'émétique; en seconde année on espaçait les injections ou on augmentait la force des doses suivant les indications que fournissaient l'état extérieur du malade et son poids en particulier; de même pour les années suivantes. L'on se décidait à suspendre le traitement lorsque après deux à trois ans le malade « semblait » se maintenir et pouvoir s'en passer.

Il est assez difficile de faire de ces essais très souvent pratiqués sans règle suivie une critique exacte. Et d'abord la continuité même du traitement pendant tout le temps que les malades ont pu être suivis (1) ne permet pas de se rendre compte de son efficacité et de faire des examens qui aient quelque valeur. Ensuite l'imprécision de la méthode, qui, si elle consistait à faire généralement usage de doses moyennes, s'aidait parfois de doses isolées fortes prescrites tantôt au début, tantôt au milieu du traitement, nuit à son appréciation. Cepen-

(1) Il est rare à l'Institut Pasteur de suivre les malades plus de deux ans : si quelques-uns (environ 5 p. 100) ont pu être observés pendant de longues années (jusqu'à douze ans), la plupart quittent Brazzaville avec autorisation au bout de quelques années; d'autres disparaissent en cours de traitement.

dant nous avons réuni 44 observations de ce genre. Sur ce nombre, nous n'en avons trouvé que trois qui puissent être citées en faveur de la méthode des doses moyennes. Elles doivent, par impartialité, être reproduites ici :

Il s'agit d'abord d'une malade (*Iniforo*), (62 kilogrammes), qui reçut au total du 27 novembre 1917 au 4 février 1918 6 atoxyl à 0,50 et 6 émétique à 0,06. Elle ne reçut aucun traitement depuis cette date et en octobre 1920, date de son départ de Brazzaville, elle était parfaitement stérilisée et en bon état.

Gembié (50 kilogrammes), reconnu trypanosomé le 4 décembre 1917, fut traité jusqu'en février 1918 par 10 atoxyl à 0,50 et 13 émétique à 0,08. Il ne reçut rien autre et ne rechuta jamais jusqu'en avril 1920, date du dernier examen.

Enfin *Loubaki* (40 kilogrammes) a été guéri avec 3 atoxyl à 0,50 et 1 atoxyl à 0,45 qu'il reçut du 10 novembre 1919 au 5 décembre 1919. En novembre 1921, il était resté stérilisé et considéré comme guéri.

Mais à ces trois observations qui, prises à part, semblent être d'autant plus en faveur des doses moyennes qu'elles n'en comportent qu'une série assez courte, nous pouvons en opposer quatorze qui se trouvent en pleine opposition avec cette méthode. Si nous sommes obligés de nous limiter à ce nombre, c'est que, devant le résultat très médiocre que donnait ce mode de traitement, nous avons repris systématiquement par une série de hautes doses et sans attendre qu'ils ne rechutent 27 malades qui avaient été traités par les doses moyennes.

Parmi les 14 malades qui n'ont pu être repris avant que la rechute ne se produise, nous citerons les observations suivantes :

Mouna (61 kilogrammes), reconnu trypanosomé le 20 juin 1917. De cette date au 17 septembre 1917, il reçoit 7 atoxyl à 0,75 et 6 émétique à 0,08. Il rechute le 26 novembre 1917, deux mois après la dernière injection. Remis d'abord au même traitement de doses moyennes continues jusqu'en juin 1920, nous instituons à cette date le traitement par les fortes doses. Il reçoit alors en l'espace de trois mois 2 atoxyl à 1 gramme, 1 atoxyl à 1,05 et 3 à 1,10. Le traitement est suspendu le 24 septembre 1920 et en décembre 1921, c'est-à-dire quinze mois après, le malade était reconnu en parfait état de stérilisation.

Makoi (60 kilogrammes) est reconnu trypanosomé le 21 janvier 1916; de cette date jusqu'en mai 1916, il reçoit 11 atoxyl à 0,50, 1 à 1 gramme. Il fait une première rechute le 4 août 1916, deux mois environ après la dernière injection. Du 4 août 1916 en octobre 1916, il reçoit encore 3 atoxyl à 0,50, un à 1 gramme, 2 néo à 0,60. Il fait une seconde rechute en mai 1918 (dix-huit

mois après). De mai 1918 à mars 1919, on lui administre 14 atoxyl à 0,80 et 13 émétique à 0,09. Une troisième rechute survient six mois après, en septembre 1919. En 1920 il est traité par les fortes doses qu'on interrompt en novembre 1920. Il reste alors parfaitement stérilisé, mais présente une forte réaction méningée (décembre 1921).

Uboyo (40 kilogrammes) reconnue trypanosomée le 24 septembre 1918 reçoit, jusqu'au 3 juillet 1919, 9 atoxyl à 0,40, 9 à 0,50, 9 émétique à 0,05. Elle rechute le 23 septembre 1919, soit deux mois après la fin du traitement. C'est alors que nous la mettons au traitement par les doses fortes. Mais elle meurt malgré ce traitement trop tardif le 31 octobre 1921, c'est-à-dire deux ans après, sans avoir présenté de rechutes.

Dzouléla (56 kilogrammes) reconnu trypanosomé le 17 septembre 1918 reçoit, jusqu'en mars 1919, 2 atoxyl à 0,80, 4 à 0,75 et 6 émétique à 0,08. Il rechute le 24 octobre 1919, 6 mois après, Repris par une série de fortes doses, il n'a pas rechuté depuis dix mois d'interruption.

Iohanny (64 kilogrammes) reconnu trypanosomé le 14 septembre 1918 reçoit, jusqu'au 9 décembre 1919, 25 atoxyl à 0,80 et 16 émétiques à 0,10. Il rechute deux mois après, le 10 février 1920, et meurt le 6 Juin 1920.

Carrère (82 kilogrammes) reconnu trypanosomé le 10 novembre 1916 reçoit, jusqu'au 15 janvier 1917, 2 néo à 0,60 encadrant 2 atoxyl à 1 gramme. Il rechute une première fois deux mois après le 16 mars 1917. Il est alors remis au traitement par les doses moyennes prolongées et reçoit jusqu'au 16 août 1917 4 atoxyl à 0,60, 1 néo à 0,60, 4 atoxyl à 0,50, 1 à 0,60, 2 à 0,75, 3 émétique à 0,10. Il fait une seconde rechute six mois après la cessation de ce traitement. le 14 janvier 1918. Il est remis à nouveau aux doses moyennes et est perdu de vue.

Ces observations donnent la mesure du pouvoir stérilisateur des doses moyennes. Il est notoirement insuffisant.

C. — Essai de traitement au moyen des doses fortes.

Nous appelons ainsi les doses correspondant à 0,015 ou même à 0,02 par kilogramme de poids du malade : elles oscillent dans la pratique entre 1 gramme et 1 gr. 25 d'atoxyl.

Elles ont été de tous temps recommandées, mais rarement mises en usage. Il y a longtemps que L. Martin et Darré avaient remarqué que « les résultats éloignés étaient moins satisfaisants avec la dose de 0,50 tous les cinq jours qu'avec de fortes doses » (1). G. Martin et Lebœuf disaient eux aussi que « cette dose de 0,50 se montre insuffisante, de quelque façon qu'on

(1) L. MARTIN et DARRÉ. *Bull. Path. exot.*, 11 novembre 1908, p. 571.

l'emploi », et ils préconisaient la dose de 1 gramme tous les dix à onze jours (1).

L'un de nous a vu de près tous les avantages de la méthode des fortes doses qu'il a pratiquée depuis douze années chez les indigènes et qui donna dans l'Ibenga-Motaba des résultats que le D^r Clapier a analysés récemment ici même (2).

Dès 1920 il la fit mettre en pratique à l'Institut Pasteur de Brazzaville qui se prêtait merveilleusement à une expérimentation rigoureuse, au contrôle des malades, des accidents s'il en survenait, et à une observation suivie. Avant de considérer les résultats que nous avons obtenus, précisons la forme que nous avons donnée au traitement.

De quelle façon convient-il d'employer les doses fortes ? Et d'abord il y a-t-il lieu de donner une ou deux doses fortes seulement ou est-il préférable d'en prescrire une série ? Dans ce cas de quelle quantité de doses doit se composer cette série ? Quels intervalles doit-on réserver entre chaque dose ?

L'expérience nous permet de dire que c'est à la méthode des doses fortes en série qu'il convient de donner la préférence.

En effet si nous savons que l'on peut stériliser définitivement des malades avec une ou deux doses fortes de substances trypanocides et d'atoxyl en particulier (3), nous n'ignorons pas d'autre part que, dans ces conditions, des rechutes se produisent quelquefois. Ainsi :

Kouka (22 kilogr.), reconnu trypanosomé le 26 avril 1916, reçoit en l'espace de deux mois 6 atoxyl à 0,50, soit plus de 0,02 par kilogramme. Ceci ne l'empêche pas de rechuter le 8 août 1916, deux mois après l'interruption du traitement.

(1) G. MARTIN et LEBOUF. *Bull. Path. exot.*, 9 décembre 1908, p. 627.

(2) CLAPIER, Contribution à l'étude des résultats thérapeutiques fournis par l'atoxylisation prophylactique dans la trypanosomiasse humaine. *Bull. path. exot.*, 13 avril 1921.

(3) Tels sont les cas de Nzaka et de Kibembé cités dans notre note sur la thérapeutique intrarachidienne dans la maladie du sommeil. *Bull. Path. exot.*, 11 janvier 1920, p. 77, et qui furent guéris, l'une avec 1,75, l'autre avec 1,50 d'atoxyl en deux fois. Nous citerons encore le cas de cinq jeunes gens traités dans l'Ibenga Motaba par l'un de nous en janvier et mars 1914, avec deux doses d'atoxyl à 0,015 par kilogramme de poids et qui furent retrouvés à Brazzaville en 1920. Le 25 novembre 1921, soit environ huit ans après, la centrifugation du sang est négative chez les cinq; le liquide céphalo-rachidien présente une réaction méningée chez l'un seulement d'entre eux qui était sans doute à la deuxième période, dès 1914, et qui malgré cela est resté stérilisé dans sa circulation périphérique.

Makkia (55 kilogr.), reconnu trypanosomé le 16 novembre 1916, reçoit 3 atoxyl à 1 gramme en l'espace de quinze jours. Elle rechute au seizième mois, le 5 avril 1918.

Convenait-il de resserrer les injections? d'augmenter encore les doses? ou de faire une série prolongée? et, dans ce cas, de quelle durée?

Même aux doses faibles (1) et *a fortiori* aux doses de 0,015 par kilogramme, on observe de l'intolérance et des troubles de la nutrition si l'on ne réserve pas entre chaque dose un intervalle qui permette à l'organisme de rétablir son équilibre. Avec des doses fortes, il faut au moins un intervalle de dix jours et pour le mieux de quatorze jours entre chaque dose, la réapparition des trypanosomes dans la circulation ne se faisant jamais dans ces conditions d'attaque par doses massives avant un minimum de deux mois (voir ci-dessus obs. de Kouka). La méthode des doses fortes doit donc être aussi celle des doses espacées.

Convenait-il de forcer les doses? Si l'on peut élever les doses d'atoxyl à 0 gr. 02 par kilogramme dans certaines conditions que nous précisons plus loin, il ne semblait pas opportun de risquer en un milieu aussi susceptible, moralement du moins, que le milieu indigène de Brazzaville, des doses massives voisines de la dose toxique, alors surtout qu'on se savait déjà très près de la dose thérapeutique optima.

Nous nous sommes donc arrêtés à la méthode des doses fortes à 0,015 par kilogramme de poids ou à un taux légèrement supérieur compris entre 0,015 et 0,02 injectées en une seule série de six et séparées chacune par un *intervalle de quatorze jours*. Dans quelques cas on a élevé le taux des doses à 0,02 par kilogramme pour une ou deux doses seulement sur six. Le traitement ainsi compris dure donc onze semaines (2). Nous avons limité la série dont se compose le traitement à six injections, parce que, forcés de nous déterminer, il nous a semblé que, dans ces conditions, on pouvait espérer la stérilisation de l'or-

(1) G. MARTIN et LEBŒUF. *Bull. Path. exot.*, 1908. Les doses faibles d'atoxyl ne sont pas toujours inoffensives et les auteurs citent un cas de rétinite toxique chez un malade traité par les petites doses d'atoxyl.

(2) Entre chaque injection d'atoxyl, on pratiquait souvent chez les noirs une injection d'émétique. Les résultats obtenus avec l'atoxyl seul ne diffèrent pas des résultats obtenus avec le traitement mixte atoxyl-émétique.

ganisme sans risquer l'intoxication. Détermination jusqu'à un certain point empirique et sur laquelle il pouvait y avoir lieu de revenir dans la suite suivant la nature des résultats qui seraient obtenus.

Ce traitement a été appliqué à deux catégories de malades : à des malades anciens déjà traités antérieurement au moyen des doses faibles ou des doses moyennes et, d'autre part, à des malades nouveaux et non encore traités.

Première catégorie : malades anciennement traités et soumis antérieurement à un traitement continu par les doses faibles ou moyennes d'atoxyl. Ce traitement dont nous avons montré l'insuffisance d'action durait depuis plusieurs mois et même dans certains cas depuis plusieurs années. Nous nous trouvions de ce fait dans les plus mauvaises conditions possibles (1).

Nous avons repris ainsi 102 malades dont 89 n'avaient pas eu de rechutes et 13 avaient présenté une ou plusieurs rechutes.

Le traitement à hautes doses a généralement suivi sans période de repos le traitement continu qui avait été antérieurement institué. Commencé en mai 1920, il prit fin pour presque tous les malades vers le mois de juillet et de septembre au plus tard, c'est-à-dire qu'actuellement la suspension de tout traitement dure depuis quatorze à dix-sept mois.

Parmi ces malades, 13 venaient de rechuter les uns pour la première fois, les autres pour la deuxième fois. Malgré ces mauvaises conditions, nous n'avons eu que 4 rechutes sur les 102 cas, soit près de 96 p. 100 de stérilisation qui a toute chance d'être définitive.

Les observations de Mouna et de Dzouléla (citées plus haut) illustrent bien l'insuffisance des doses faibles (rechutes) et la supériorité des doses fortes. Nous y joindrons l'observation suivante qui corrobore les autres.

(1) Ne rendons pas, disait Ehrlich, notre tâche plus compliquée en expérimentant d'abord les nouvelles méthodes de traitement sur des cas depuis longtemps traités, dans lesquels il y a eu souvent des rechutes. Si donc nous voulons essayer d'obtenir la stérilisation systématique dans la maladie du sommeil, il nous faut d'abord choisir pour l'expérimentation des cas tout à fait récents et n'ayant encore subi aucun traitement. *Chimiothérapie des Spirillozes*, traduction française d'Emery.

Ndaboumou (52 kilogr.) a été reconnue trypanosomée en 1917. Elle reçoit en l'espace de trois mois 5 atoxyl à 0,50, 2 à 0,60, 1 à 0,75, 2 néo à 0,60, 3 émétique à 0,08. Une rechute se déclare au quinzième mois après la cessation du traitement. Elle est alors reprise par une série de 6 injections d'atoxyl à 1 gramme et seize mois après la fin de ce traitement elle se trouve stérilisée.

Deuxième catégorie : malades n'ayant pas été traités antérieurement.

Nous avons pu suivre 84 malades qui n'avaient jamais été traités et dont l'affection venait d'être diagnostiquée par nous. Ces malades, après avoir reçu une série de 6 injections fortes d'atoxyl, ont été mis au repos.

La cessation du traitement dure depuis treize à dix-sept mois pour 21 d'entre eux, depuis douze à treize mois pour 41 autres, depuis sept à douze mois pour les 22 derniers.

Le taux des injections a été de 0,015 par kilogramme pour l'un seulement d'entre eux et a varié entre 0,015 et une dose légèrement plus élevée comprise entre 0,015 et 0,02 sans cependant atteindre cette dernière pour 73 autres malades. Il y en a 10 enfin qui ont reçu 1 à 2 doses à 0,02 et 4 à 5 doses comprises entre 0,015 et 0,02.

Sur ces 84 malades, 5 ont rechuté : 3 d'entre eux au sixième mois et les deux autres du dixième au douzième mois. Ces 5 rechutes concernent des malades ayant reçu 6 doses dont le taux d'atoxyl variait entre 0,015 et 0,02 par kilogramme.

Aucun des 10 malades ayant reçu 1 à 2 doses à 0,02 par kilogramme sur les 6 injections n'a rechuté.

* * *

De cette longue série d'expériences, il ressort que les doses faibles ne donnent aucune sécurité, que la proportion des guérisons est de 6 p. 100 environ avec les doses moyennes (3 p. 44) et qu'enfin elle est incomparablement plus élevée avec l'emploi des doses fortes.

En effet si nous ne tenons compte, pour être plus stricts, que des 62 malades qui ont interrompu leur traitement depuis au moins douze mois, sans prendre en considération les 22 malades qui n'ont que sept à douze mois d'interruption, le

taux des cas qui n'ont pas présenté de rechutes s'élève à 93 p. 100 (58 p. 62).

Un plus grand recul est nécessaire, nous dira-t-on, pour juger de la valeur exacte du procédé. Nous admettons que quelques rechutes puissent se produire encore parmi ces malades, mais il est tout probable qu'elles seront fort rares si tant est qu'il s'en produise.

Les rechutes, ainsi que nous venons de le voir, sont, en effet, généralement précoces (entre le sixième et le douzième mois) et nos malades ont déjà presque tous franchi le moment critique.

Nous concluons :

Dans le traitement de la maladie du sommeil à la première période, les doses au-dessous de 0,015 par kilogramme sont à rejeter : seules les doses fortes doivent être employées.

On fera une série de 6 injections (1 par quinzaine), dont 4 à 0,015 minimum par kilogramme et 2 à 0,02. On pourra, sans aucune crainte, ouvrir le traitement par une dose à 0,02 chez tout malade se présentant dans les conditions d'état requis.

Pour éviter à tout prix les plus minimes risques de rechute, on pourra faire une seconde série d'injections vers le sixième mois après la terminaison de la première série; on contrôlera dans ce cas l'état du malade dans les conditions de même minutie que s'il s'agissait d'un malade inconnu (centrifugation du sang et du liquide céphalo-rachidien) et on lui fera une série de 4 à 6 injections fortes dont le taux oscillera encore entre 0,015 et 0,02 par kilogramme (1).

*
* *

Notre but ne serait pas entièrement rempli si, après avoir établi la supériorité d'efficacité de la méthode des doses massives, nous n'en montrions l'innocuité et nous ne précisions les conditions requises pour éviter tout accident.

A. On a prétendu que la médication atoxylique à doses massives provoquait des accidents nerveux. Et d'abord on a

(1) On pourra aussi, ainsi qu'on le fait généralement à Brazzaville où les malades se présentent à la visite tous les sept jours, associer l'émétique à l'atoxyl. Ce traitement mixte ne peut que parfaire la stérilisation.

cru devoir lui reprocher de favoriser le néurotropisme du virus.

Si tant est qu'on puisse dire que la syphilis nerveuse ait fait son apparition à la suite et par le fait même du traitement entrepris contre les accidents syphilitiques cutanéomuqueux (1), la trypanosomiase nerveuse ne peut certes pas se voir attribuer pareille origine.

Son existence, bien antérieure à notre arrivée en Afrique, prouve bien d'un côté qu'elle n'est pas apparue comme conséquence de la mise en œuvre de moyens thérapeutiques d'une nature efficiente et à la suite d'une transformation lente et progressive du virus et de ses qualités spéciales de tropisme sous l'influence du traitement.

D'un autre côté, ainsi qu'en fait foi le tableau suivant, l'atoxyl à hautes doses ne provoque chez les malades de la première période aucune réaction méningée perceptible par laquelle s'exprime toujours l'atteinte des centres nerveux dans la trypanosomiase.

On voit par ce tableau que l'analyse du liquide céphalo-rachidien est négative au point de vue réaction méningée et au point de vue présence de trypanosomes chez les 10 malades qui ont été examinés une semaine après la première injection et qu'elle est de même négative chez les 15 malades une semaine après la cessation du traitement.

De même, pour l'amaurose qu'on a assez souvent observée au cours du traitement des trypanosomés, cet accident paraît être plutôt sous la dépendance de l'affection et de l'atteinte préalable des centres nerveux que sous celle du médicament lui-même. Il ne survient guère, en effet, que chez les trypanosomés à la deuxième période (voir 3^e partie de ce travail) et on n'a généralement pas à le redouter lorsqu'on traite des trypanosomés première période.

Cependant, on a cité des cas d'amaurose survenue à la suite du traitement chez les malades dont le système nerveux sem-

(1) LACAPÈRE, Un dispensaire antisyphilitique à Fez, 1918, et WOLF CARTIER, Au sujet de l'influence de la civilisation sur le développement de la paralysie, 1921. « L'attaque brutale, en particulier des injections intraveineuses, rejette le tréponème loin de la circulation et des territoires cutanés, où sans cela il aurait continué à se multiplier et à évoluer librement, vers les centres nerveux où le remède a beaucoup plus de peine à l'atteindre. » (Lacapère.)

NOMS	LIQUIDE CÉPH.-RACHID. au moment du diagnostic			1 ^{re} INJECTION D'ATOXYL	LIQUIDE CÉPH.-RACHID. 1 semaine après la 1 ^{re} injection			TRAITEMENT	LIQUIDE CÉPH.-RACHID. 1 semaine après le traitement			POIDS après le traite- ment
	Cellules	Albumine	Centrifug.		Cellules	Albumine	Centrifug.		Cellules	Albumine	Centrifug.	
<i>Tsnda</i> . . . 39 kg., 1 m. 58.	4	0,10	OT	1 atox. 0,80	0	0,10	OT	5 atox. 0,80 5 émét. 0,06	8	0,10	OT	39
<i>Maneala</i> . . . 58 kg., 1 m. 68.	20	0,10	OT	1 atox. 1,10	12	0,10	OT	5 atox. 1,10 5 émét. 0,10	0	0,10	OT	58
<i>Niakou</i> . . . 46 kg., 1 m. 63.	0	0,10	OT	1 atox. 1,00	0	0,10	OT	5 atox. 1,00 5 émét. 0,08	0	0,10	OT	52
<i>Moukissi</i> . . . 53 kg., 1 m. 63.	4	0,10	OT	1 atox. 1,00	4	0,10	OT	5 atox. 1,00 5 émét. 0,08	12	0,10	OT	55
<i>Pikou</i> 50 kg., 1 m. 61.	0	0,10	OT	1 atox. 1,00	4	0,10	OT	5 atox. 1,00 5 émét. 0,08	12	0,10	OT	49
<i>Kipiti</i> 37 kg., 1 m. 52.	0	0,10	OT	1 atox. 0,80	4	0,10	OT	5 atox. 0,80 5 émét. 0,06	0	0,10	OT	38
<i>N'Gombi</i> . . . 53 kg., 1 m. 53.	0	0,10	OT	1 atox. 1,00	8	0,10	OT	5 atox. 1,00 5 émét. 0,08	20	0,10	OT	52
<i>Londi</i> 50 kg., 1 m. 60.	8	0,10	OT	1 atox. 1,60	20	0,10	OT	5 atox. 1,00 5 émét. 0,08	0	0,10	OT	48
<i>Massamba</i> . . 56 kg., 1 m. 70.	8	0,10	OT	1 atox. 1,10	0	0,10	OT	5 atox. 1,10 5 émét. 0,08	0	0,10	OT	58
<i>Maniala</i> . . . 41 kg., 1 m. 55.	4	0,10	OT	1 atox. 0,80	8	0,10	OT	5 atox. 0,80 5 émét. 0,06	8	0,10	OT	41
<i>Monsoki</i> . . . 44 kg., 1 m. 50.	4	0,10	OT	"	"	"	"	6 atox. 0,80 5 émét. 0,06	0	0,10	OT	45
<i>Bongouma</i> . . 69 kg., 1 m. 62.	12	0,10	OT	"	"	"	"	6 atox. 1,10 5 émét. 0,10	0	0,10	OT	68
<i>Mayémé</i> . . . 43 kg., 1 m. 50.	12	0,10	OT	"	"	"	"	6 atox. 0,90 5 émét. 0,06	4	0,10	OT	43
<i>Mokiélo</i> . . . 53 kg., 1 m. 70.	8	0,10	OT	"	"	"	"	6 atox. 1,00 5 émét. 0,08	0	0,10	OT	51
<i>M'Péla</i> 58 kg., 1 m. 70.	0	0,10	OT	"	"	"	"	6 atox. 1,10 5 émét. 0,10	4	0,10	OT	60

blait indemne. C'était généralement la méthode par les doses peu espacées et longtemps continuées qui avait été employée en l'occurrence et qui paraissait spécialement en cause dans l'éclosion de ces accidents.

Dans ce cas, il semble que l'atoxyl jouisse effectivement d'un certain organotropisme à électivité particulière pour les centres ou les voies optiques et c'est pour cette raison qu'on devra éviter, tant que faire se pourra, d'avoir recours au traitement continu. La méthode par les doses massives reçoit de ce fait une indication nouvelle.

On a chargé la médication atoxylique à doses massives d'autres méfaits encore.

B. Elle aurait une mauvaise influence sur l'état général des malades et sur leurs fonctions de nutrition.

Si le contrôle de l'état de santé par la vérification du poids peut induire en erreur en certains cas (particulièrement à la deuxième période) et si l'augmentation donne une fausse sécurité dans ces cas (voir travail précédent sur le liquide céphalo-rachidien basé d'évolution et du traitement de la maladie du sommeil), il n'en reste pas moins, qu'à la première période, ce renseignement garde une grande valeur surtout en ce qui concerne la vérification du poids au sixième mois après le traitement.

Nous avons vérifié les poids chez 80 malades à la première période, avant le traitement, immédiatement après la première injection, une semaine après la première injection, et six mois après la cessation du traitement.

Parmi ces malades 5 avaient rechuté et étaient à la deuxième série de traitement, 75 étaient des malades nouveaux.

	MOYENNE DES POIDS DES 80 MALADES			
	Avant traitement	Après la 1 ^{re} injection	1 semaine après la 1 ^{re} injection	6 mois après le traitement
	Kilogr.	Kilogr.	Kilogr.	Kilogr.
Malades ayant rechuté .	46,6	47,1	49,4	49,6
Malades nouveaux . . .	47,4	47,6	48,3	48,9

Tous nos malades avaient légèrement gagné. Chez aucun d'eux on n'avait constaté un fléchissement de l'organisme.

C. La médication atoxylique aurait provoqué des accidents graves, des décès même à la suite de choc humoral ou par intoxication.

a) *Par choc*. — Si l'on opère sur des malades dont l'état de santé a été bien contrôlé et chez lesquels l'absence de réaction méningée a été bien établie, ces accidents ne surviennent pas. Nous n'avons eu, pour notre part, aucun cas d'accident immédiat ou tardif parmi les nombreux malades que nous avons soignés par les doses fortes.

Des cas d'idiosyncrasie à l'arsenic peuvent se rencontrer chez les Européens : il faut s'en méfier et prendre les précautions nécessaires (anamnèse qui peut fournir des renseignements de toute valeur, emploi d'une dose d'essai minima). On n'en a jamais observé chez les indigènes et d'anaphylaxie encore moins. Le noir jouit, en effet, d'un équilibre humoral incomparablement plus stable que celui des races civilisées et les influences qui détruisent si facilement le nôtre ne troublent pas le sien.

Chez l'Européen même, l'anaphylaxie à l'arsenic, par l'atoxyl du moins, est relativement très rare.

On doit sans doute l'absence des accidents de ce genre au mode d'administration de l'atoxyl, l'injection sous-cutanée qui est toujours et uniquement usitée pour ce médicament étant une garantie contre eux. Et c'est un mérite de plus à mettre au compte de l'atoxyl.

b) *Par intoxication*. — On peut provoquer des accidents d'intoxication arsenicale et des fléchissements de l'état général en employant des doses d'atoxyl trop fortes ou trop rapprochées, mais on n'a pas à les craindre quand on reste dans les limites de posologie que nous avons gardées et que nous devons préciser.

Le traitement type par doses fortes, celui qui donne le meilleur rendement, se compose, avons-nous dit, de une à deux doses à 0,02 et de quatre à cinq doses oscillant entre 0,015 et 0,02, toutes séparées par un intervalle de quatorze jours. Il convient à tous les malades dont le poids ne dépasse pas

60 kilogrammes, c'est le cas général des adultes de petite race qu'on soigne à Brazzaville. Mais il faut savoir qu'il y a une dose maxima d'atoxyl qu'on ne devra, en aucun cas, dépasser, quel que soit le poids du malade. Cette dose semble être aux environs de 1,50 dans le cas de dose unique et elle s'abaisse à 1,25 toutes les fois qu'on fait des injections en série.

Il y aura même avantage, pour un poids de 80 kilogrammes par exemple, à ne pas renouveler la dose de 1,25 plus de deux fois et à réduire les quatre autres doses de la série à 1,10.

C'est que la notion de poids n'est pas tout dans la question d'appréciation des doses d'atoxyl qu'il convient d'administrer. Si elle peut servir dans une certaine mesure, il ne faut pas oublier que le poids du corps d'un individu n'est pas forcément en rapport avec la capacité fonctionnelle de ses organes. C'est même souvent le contraire qui se passe chez nous Européens dont la surcharge graisseuse enveloppe des glandes quelquefois atrophiées ou à fonctions ralenties. Dans cet état, un adulte obèse supportera certainement des doses beaucoup moins élevées qu'un adolescent qui possède des organes d'élaboration et d'élimination intacts (1).

En thérapeutique, et pour l'administration de l'atoxyl, en particulier, on doit donc souvent prendre d'autre guide que le poids du malade, et se laisser parfois guider par le sens clinique (2).

L'intoxication arsenicale peut encore se réaliser avec des doses non toxiques par elles-mêmes mais qui le deviennent par leur répétition. Le temps d'élimination de l'atoxyl a beau être très court (Tendron), cette substance laisse derrière elle

(1) Le procédé courant d'estimation de la dose toxique d'une substance donnée pour un animal n'est pas très juste : elle consiste, comme on sait, à empoisonner l'animal avec une dose limite de substance et à diviser la quantité de poison par le poids du corps pour avoir la quantité de poison par kilogramme. « Il faudrait, dit Claude Bernard, pour être plus exact, calculer non pas par kilogramme du corps de l'animal pris en masse, mais par kilogramme du sang et de l'élément sur lequel agit le poison. »

(2) Sur 186 malades traités par les doses fortes, nous avons eu à enregistrer un décès : il concerne un sujet de constitution médiocre (taille : 1 m. 65, poids : 45 kilogrammes), qui est mort six jours après une seule injection de 0,90 d'atoxyl avec des symptômes d'intoxication arsenicale (céphalée, fièvre, contracture généralisée). Dans la suite, pour de tels sujets, nous avons employé la dose de 0,80. Il faut, d'ailleurs, remarquer que d'autres indigènes dans les mêmes conditions ont reçu de fortes doses à 0,02 par kilogramme sans inconvénients.

des traces de son passage qui font qu'une deuxième dose n'est pas supportée comme la première et ainsi de suite, et cela est d'autant plus manifeste que les doses employées sont plus fortes. C'est pour cela que nous n'employons que une à deux doses à 0,02 par kilogramme pour un adulte de 60 kilogrammes car, en maintenant ce taux pour les six injections à un intervalle de quatorze jours entre chacune, on risquerait une intoxication qui se traduit dans ses débuts par des troubles de la nutrition (perte de poids et des forces).

Il existe, enfin, une dernière précaution à prendre tant pour prévenir les accidents (1) que pour éviter les échecs avec les doses fortes : elle consiste à surveiller toujours, très attentivement, l'exécution du traitement et l'administration des doses. Si nous n'avons pas été témoins d'accidents graves provoqués par l'atoxyl, nous avons constaté des cas de non-stérilisation à la suite d'un prétendu traitement à doses massives d'atoxyl.

Ces échecs étaient dus dans tous les cas observés à l'impéritie des agents (infirmiers noirs, le plus souvent, mais aussi infirmiers européens, il faut bien l'avouer), chargés de l'exécution du traitement, de la confection de la solution d'atoxyl ou de l'injection. Dans ces conditions, l'erreur est en plus et on court aux accidents d'intoxication, ou bien l'erreur est en moins (taux de la solution trop faible, diminution de la contenance de la seringue par la déformation et l'augmentation de volume du piston) et, au lieu de stériliser son malade, on entretient son mal et on le rend réfractaire à l'atoxyl.

Chez l'homme, la résistance à l'atoxyl semble bien n'avoir eu le plus souvent d'autre origine et n'être qu'une propriété

(1) Il faut savoir aussi que l'atoxyl en solution se décompose sous l'influence de la chaleur (par la stérilisation des solutions à chaud en particulier) ou à l'état sec peut subir une altération spontanée accompagnée de la perte de son eau de cristallisation. En 1917, de graves accidents se produisirent au Congo sous l'influence de l'une ou de l'autre de ces causes. M. François, sous-directeur du laboratoire central de Paris, trouva que les échantillons suspects qu'on lui donna à analyser ne contenaient plus d'atoxyl, mais de l'arsenic sous forme d'anhydride arsénieux et d'acide arsénique combinés au sodium : 0 gr. 50 de ces échantillons contenaient une dose d'arsenic toxique correspondant à 3 grammes d'acide arsénieux et à 0 gr. 56 d'arséniate de soude. On ne trouvait plus trace d'aniline qui avait dû se transformer en un autre dérivé. Les accidents par adultération de l'atoxyl sont très rares : ils ne se sont pas renouvelés au Congo depuis 1917.

acquise par les trypanosomes sous l'influence de doses faibles administrées dès le début du traitement.

« Agir de façon aussi intense que possible pour obtenir d'un seul coup la stérilisation de l'organisme et la guérison complète », tel est le principe de la *Therapia sterilisans magna* établi par Ehrlich. Tel est le but auquel on doit toujours tendre, car c'est le seul moyen d'éviter les troubles dus aux médications prolongées et l'accoutumance du virus au médicament.

Pour notre part, et en ce qui concerne le traitement de la trypanosomiase à la première période, les faits d'observation nous ont appris depuis longtemps que, seule, la méthode d'assaut pouvait conduire à des résultats décisifs et que, seul encore de toute la série des composés organo-arsenicaux, l'atoxyl permettait de réaliser ce traitement dans toute sa force, grâce à son grand pouvoir trypanocide, à son innocuité, à sa facilité de maniement et, enfin, à la très heureuse propriété qu'il possède de pouvoir être injecté en dehors de la veine, ce qui, tout en donnant garantie contre les phénomènes d'intolérance, réalise une plus longue imprégnation des tissus par le médicament et augmente proportionnellement ses effets (1).

(1) FLEIG, Toxicité du salvarsan. L'activité des organo-arsenicaux est en rapport direct avec la durée de séjour du produit dans l'organisme et en rapport inverse avec sa vitesse d'élimination.

ESSAIS DE TRAITEMENT DE LA MALADIE DU SOMMEIL A LA DEUXIÈME PÉRIODE

LES PRINCIPES DIRECTEURS - RÉSULTATS DE LEUR APPLICATION

par le Dr LEFROU.

Avant de commencer les essais, nous avons considéré comme un dogme presque intangible, en milieu indigène et en pratique non hospitalière, la méthode de traitement par des injections hebdomadaires à jour fixe. C'est la seule, en effet, qui permet d'appliquer à des sujets insoucians, sinon indociles, un traitement continu de longue haleine. D'ailleurs ce procédé *a priori* ne nuit nullement aux résultats, et Broden et Rodhain (1) dans une étude très documentée condamnent la méthode de Koch d'atoxylisation tous les dixièmes et onzièmes jours; ils ne recommandent plus leur méthode d'atoxylisation tous les cinq jours et au contraire préconisent maintenant le traitement par des doses hebdomadaires.

Ainsi les essais sont établis sur une base pratique.

PREMIER PRINCIPE :

Les « nouveaux trypanosomés » à la deuxième période ne doivent pas être traités par les doses très fortes d'atoxyl.

A dessein, nous parlons de « nouveaux trypanosomés », c'est-à-dire de sujets n'ayant jamais été traités, car dans le cas contraire l'influence des médications antérieures vient complètement fausser l'interprétation thérapeutique.

Par doses très fortes, nous entendons les doses dépassant 0,0175 par kilogramme et atteignant 0 02; ce sont celles qu'on emploie souvent à la première période, au nombre de 1 à 2

(1) BRODEN et RODHAIN, L'atoxyl dans le traitement de la trypanose humaine. *Ann. de la Soc. belge de Méd. trop.*, 2, 1924, p. 171.

par série de 6. Par doses moyennement fortes, il faut entendre les doses qui oscillent autour de 0,015 par kilogramme et dont on se sert couramment à la première période (4 à 5 fois par série). Cette sous-classification des doses fortes dans lesquelles nous englobons toutes les doses qui vont de 0,015 à 0,02 (voir notre deuxième partie) a été reconnue nécessaire ici pour serrer dans des limites plus étroites le problème des doses à la deuxième période.

Le principe précédent se trouve vérifié en considérant les décès survenus chez 59 trypanosomés deuxième période pendant une période d'observation d'au moins six mois pour chacun d'eux.

Le tableau I classe les trypanosomés et les décès suivant l'intensité de la réaction méningée et le mode de traitement, le tableau II résume les observations des malades morts pendant la période considérée.

Les trypanosomés ont été divisés en deux catégories, suivant l'intensité de la réaction méningée pouvant correspondre cliniquement au stade du début et au stade d'état de la deuxième période. Les sujets parvenus à un degré avancé ont été éliminés de cette statistique, car chez eux, toute thérapeutique peut être nocive, et il est difficile de faire la part qui revient à l'évolution spontanée de la maladie.

Dans un but de codification, la base du traitement d'attaque a été de six injections d'atoxyl alternées ou non à semaine passée avec des injections d'émétique. Les malades décédés au cours du traitement sont donc ceux qui ont succombé avant d'avoir reçu les six injections d'atoxyl ou quelques jours après.

Le tableau I met en évidence les faits suivants :

Sur 59 trypanosomés, deuxième période, mis en observation pendant une période de six mois, on n'a eu à enregistrer des décès que parmi les 23 malades soumis au traitement par de très fortes doses.

Sur 6 malades au stade d'état, 2 décès, l'un au cours du traitement, l'autre un mois et demi après; ces accidents arrivés presque coup sur coup nous ont fait écarter immédiatement la médication avec les très fortes doses pour cette catégorie de trypanosomés. Les 17 autres sujets étaient au début de la

TABLEAU I.

NOMBRE de sujets	INTENSITÉ de la réaction méningée	MODE de traitement	NOMBRE de décès	RÉPARTITION des décès
28	50 à 150 cellules (stade de début de la 2 ^e période).	17 malades traités par doses très fortes. 11 malades traités par doses moyennement fortes.	1	1 en cours traitement très fortes doses.
31	200 à 280 cellules (stade d'état de la 2 ^e période).	6 malades traités par doses très fortes. 25 malades traités par doses moyennement fortes.	2	1 en cours traitement très fortes doses ; 1 après 1 mois 1/2 très fortes doses.

TABLEAU II. — Les décès au cours de la 1^{re} série.

NOMS TAILLE POIDS	GANGLIONS	CENTRIFUGATION	TRAITEMENT	LIQUIDE CÉPH.-RACHID.			OBSERVATIONS
				Cérites	Albumine	Centrifug.	
<i>Moukanza</i> . . . 1 m. 52 43 kg.	T	T	Reconnu tryp. 29 sept. 5 atoxyl 0,90. . } 29 sept. 4 émétiq. 0,06. } 6 déc. 12 déc.	30	0,30	OT	En bon état apparent.
<i>Konkou</i> . . . 1 m. 58 46 kg.	T	T	Reconnu tryp. 17 mai. 6 atoxyl 0,90. . } 17 mai. 5 émétiq. 0,06. } 26 juil. 9 août.	304	0,20	OT	Décédé. Excitation.
<i>Tchimba</i> . . . 1 m. 60 45 kg.	OT	OT	Reconnu tryp. 6 juin. 6 atoxyl 0,80. . } 6 juin. 26 juil. 11 sept.	352	0,50	T	Décédé. Tremblements. Décédé.

deuxième période, et l'on pouvait espérer une stérilisation des centres nerveux par de très fortes doses; l'expérimentation nous

a donné un décès et ainsi nous a incité à être très prudent dans le maniement de l'atoxyl pour de tels malades.

De ce qui précède, découle la conclusion qu'employer chez les trypanosomés deuxième période de très fortes doses d'atoxyl, c'est courir le risque d'avoir le maximum d'accidents attribuables au traitement; systématiquement il faut donc les éliminer de la thérapeutique à la deuxième période.

Il est cependant intéressant de mentionner qu'avec une première série de telles doses, nous n'avons pas eu de cas d'amaurose. Au contraire, comme nous le verrons dans la deuxième partie de ce travail, les troubles visuels sont survenus après plusieurs séries d'injections.

DEUXIÈME PRINCIPE :

Une série d'injections d'atoxyl ou de néosalvarsan provoque comme résultat immédiat une diminution de la lymphocytose et une légère modification de la quantité d'albumine coïncidant le plus souvent avec une amélioration clinique.

L'examen du liquide céphalo-rachidien pratiqué systématiquement une semaine après la fin du traitement (six injections) démontre le principe (tableaux III et IV).

Sur 50 observations de malades, dont 43 traités par l'atoxyl et 7 par le néo, il n'y a à signaler que trois exceptions (obs. 7, 12, 18); 2 concernent des liquides céphalo-rachidiens à albumine normale : dans l'un (obs. 12), la lymphocytose a été légèrement augmentée; dans l'autre (obs. 18), elle n'a pas été modifiée. Seule l'observation 7 déroge à la règle : avec un liquide céphalo-rachidien à albumine et à lymphocytose anormales, l'albumine seule a été abaissée, alors que la lymphocytose a augmenté.

Ces exceptions n'enlèvent rien à la valeur du principe : le matériel humain morbide étant bien rarement semblable, un principe thérapeutique, faute d'un déterminisme absolu, ne peut avoir la constance d'une loi mathématique.

Comme on le voit, ce phénomène est indépendant de la présence ou de l'absence des trypanosomes dans le sang centrifugé, et il se produit aussi bien chez le malade qui n'a jamais

TABLEAU III (1). — Influence immédiate du traitement. Nouveaux trypanosomés.

NOMS TAILLE POIDS	GANGLIONS	SANG	1 ^{er} EXAMEN			TRAITEMENT	2 ^e EXAMEN			3 ^e EXAMEN			
			LIQUIDE CÉPHALO - RACHID. avant le traitement				Cellules	Albumine	Centrifug.	TEMPS APRÈS	LIQUIDE CÉPH.-RACHID.		
			Cellules	Albumine	Centrifug.						Cellules	Albumine	Centrifug.
1. <i>M' Boyo</i> . . . 1 m. 70, 57 kg.	"	OT	2.084	0,70	T	6 atoxyl 0,90 5 émét. 0,08	72	0,40	OT	3	580	0,40	T
2. <i>Folo</i> 1 m. 67, 57 kg.	"	T	400	0,40	OT	6 atoxyl 0,80 5 émét. 0,08	196	0,40	OT	5	268	0,40	OT
3. <i>Epia</i> 1 m. 25, 20 kg.	T	T	484	0,30	T	6 atoxyl 0,35	72	"	OT	"	"	"	"
4. <i>Ebarra</i> 1 m. 65, 65 kg.	T	"	1.040	0,70	T	6 atoxyl 1,10 5 émét. 0,10	108	0,40	OT	2	560	0,50	OT
5. <i>M'Goumba</i> . . 1 m. 61, 59 kg.	"	T	800	0,60	T	6 atoxyl 1,00 5 émét. 0,08	104	0,30	OT	"	"	"	"
6. <i>M'Bassaka</i> . . 1 m. 63, 59 kg.	"	T	72	0,20	OT	6 atoxyl 1,00 5 émét. 0,10	20	0,15	OT	"	"	"	"
7. <i>Kifoani</i> 1 m. 60, 47 kg.	T	"	148	0,35	OT	6 atoxyl 0,75 5 émét. 0,06	236	0,30	OT	3	860	0,40	T
8. <i>Emaye</i> 1 m. 68, 69 kg.	T	"	3.380	0,80	T	6 atoxyl 0,80 4 émét. 0,10	904	0,40	T	2	840	0,50	T
9. <i>Louyala</i> . . . 1 m. 68, 51 kg.	T	"	484	0,20	T	6 atoxyl 1,00 5 émét. 0,08	12	0,10	OT	2	8	0,10	OT
10. <i>Sambo</i> 1 m. 74, 58 kg.	OT	T	236	0,60	OT	6 atoxyl 0,90 5 émét. 0,10	40	0,50	OT	1 1/2	140	0,50	OT
11. <i>Bi Dimbou</i> . . 1 m. 66, 53 kg.	T	"	784	0,30	OT	6 atoxyl 0,80 5 émét. 0,08	612	0,30	OT	1 1/2	828	0,50	OT
12. <i>Maoua</i> 1 m. 61, 48 kg.	T	"	56	0,10	OT	6 atoxyl 0,90 5 émét. 0,08	88	0,10	OT	2	88	0,10	OT
13. <i>Makinzi</i> . . . 1 m. 55, 35 kg.	T	"	148	0,30	OT	6 atoxyl 0,50 5 émét. 0,08	26	0,10	OT	4	180	"	OT
14. <i>Ellara</i> 1 m. 66, 68 kg.	T	"	340	0,90	T	6 atoxyl 0,90 5 émét. 0,10	44	0,50	OT	4	940	0,30	OT
15. <i>N'Tari</i> 1 m. 64, 59 kg.	T	"	56	0,20	OT	6 atoxyl 0,10 5 émét. 0,10	16	0,20	OT	2	96	0,50	OT
16. <i>Moulengue</i> . . 1 m. 65, 65 kg.	T	"	48	0,20	OT	6 atoxyl 1,10 5 émét. 0,10	20	0,15	OT	"	"	"	"
17. <i>Kenko</i> 1 m. 50, 39 kg.	T	"	480	0,40	OT	6 atoxyl 0,60 5 émét. 0,06	36	0,40	OT	"	"	"	"
18. <i>Kodia</i> 1 m. 60, 48 kg.	T	"	88	0,10	OT	6 atoxyl 1,00 5 émét. 0,08	88	0,10	OT	"	"	"	"

(1) Pour les tableaux III et IV, le deuxième examen du liquide céphalo-rachidien a été fait environ une semaine après le traitement.

NOMS TAILLE POIDS	GANGLIONS	SANG	1 ^{er} EXAMEN			TRAITEMENT	2 ^e EXAMEN			3 ^e EXAMEN			
			LIQUIDE CÉPHALO - RACHID. avant le traitement				LIQUIDE CÉPH. - RACHID. 1 semaine après le traitement			TEMPS	LIQUIDE CÉPH. - RACHID.		
			Cellules	Albumine	Centrifug.		Cellules	Albumine	Centrifug.		APRÈS	Cellules	Albumine
19. <i>Obidjili</i> . . . 1 m. 60, 53 kg	T	»	52	0,20	OT	6 atoxyl 1,00 5 émét. 0,40	20	0,20	OT	mois 2	408	0,50	OT
20. <i>Massamba</i> . . 1 m. 10, 18 kg.	OT	OT	696	0,50	T	6 atoxyl 0,30	152	0,30	OT	»	»	»	»
21. <i>Tanda</i> 1 m. 60, 60 kg.	T	»	68	0,30	OT	6 atoxyl 0,90	20	0,20	OT	»	»	»	»
22. <i>Massamga</i> . . 1 m. 62, 54 kg.	OT	OT	268	0,60	T	6 atoxyl 0,80	172	0,60	T	»	»	»	»

TABLEAU IV. — Influence immédiate du traitement. Anciens trypanosomés.

NOMS TAILLE POIDS	TEMPS après diagnostic	TEMPS après traitement	CENTRIFUGATION du sang	1 ^{er} EXAMEN			TRAITEMENT	2 ^e EXAMEN			3 ^e EXAMEN				
				LIQUIDE CÉPHALO-RACHID. avant le traitement				LIQUIDE CÉPH.-RACHID. 1 semaine après le traitement	TEMPS	LIQUIDE CÉPH. - RACHID.					
				Cellules	Albumine	Centrifug.				APRÈS	Cellules	Albumine	Centrifug.		
	mois	mois									mois				
23. <i>Mayama</i> . . 1 m. 63, 56 kg.	4	2	OT	476	0,80	T	6 atox. 1,00	72	0,50	OT	»	»	»	»	
24. <i>N'Goma</i> . . . 1 m. 72, 61 kg.	11	7	T	124	0,20	OT	6 atox. 1,20 3 émét. 0,10	24	0,20	OT	2	128	0,20	OT	
25. <i>Atipoko</i> . . . 1 m. 47, 52 kg.	36	33	OT	308	0,40	T	6 atox. 1,00	52	0,20	OT	»	»	»	»	
26. <i>Moussaou</i> . . 1 m. 30, 36 kg.	13	11	OT	1.000	0,50	T	6 atox. 0,70	36	0,30	OT	1 1/2	100	0,30	OT	
27. <i>M'Solo</i> 1 m. 52, 57 kg.	29	12	OT	1.225	1,00	T	6 atox. 1,00	300	0,80	OT	»	»	»	»	
28. <i>Sambou</i> . . . 1 m. 62, 56 kg.	46	7	OT	508	0,60	T	6 atox. 0,50	76	0,50	OT	»	»	»	»	
29. <i>Mete</i> 1 m. 73, 65 kg.	43	19	OT	520	0,40	T	6 atox. 0,70	44	0,40	OT	»	»	»	»	
30. <i>Bembi</i> 1 m. 70, 57 kg.	46	12	OT	429	0,50	OT	6 atox. 0,60	116	0,50	OT	2	252	0,50	OT	
31. <i>Sango</i> 1 m. 65, 51 kg.	25	13	OT	464	0,70	T	6 atox. 0,70	106	0,40	OT	»	»	»	»	

NOMS TAILLE POIDS	TEMPS après diagnostic	TEMPS après traitement	CENTRIFUGATION du sang	1 ^{er} EXAMEN			TRAITEMENT	2 ^e EXAMEN			3 ^e EXAMEN			
				LIQUIDE CÉPHALO-RACHID. avant le traitement				LIQUIDE CÉPH. - RACHID. 1 semaine après le traitement			TEMPS APRÈS	LIQUIDE CÉPH. - RACHID.		
				Cellules	Albumine	Centrifug.		Cellules	Albumine	Centrifug.		Cellules	Albumine	Centrifug.
	mois	mois									mois			
32. <i>Makelo</i> . . . 1 m. 61, 59 kg.	24	14	OT	516	0,90	T	6 atox. 1,00	81	0,50	OT	"	"	"	"
33. <i>Makoyo</i> . . . 1 m. 47, 47 kg.	14	2	OT	308	0,30	T	6 atox. 0,50	288	0,30	OT	2	872	0,30	OT
34. <i>Itoua</i> 1 m. 55, 55 kg.	8	2	OT	304	0,60	T	6 atox. 0,60	264	0,60	T	2	472	0,80	T
35. <i>Makoi</i> 1 m. 63, 59 kg.	65	8	OT	480	0,60	OT	6 atox. 0,60	168	0,60	OT	2	272	0,80	T
36. <i>Fode</i> 1 m. 57, 36 kg.	4	2	OT	700	0,40	OT	6 atox. 0,60	283	0,30	T	3	488	0,70	T
37. <i>Dahdia</i> . . . 1 m. 61, 61 kg.	15	7	OT	60	0,40	OT	6 atox. 1,10 5 émét. 0,08	34	0,30	OT	3	124	0,50	OT
38. <i>Goma</i> 1 m. 70, 57 kg.	4	2	OT	432	0,70	OT	6 atox. 0,90	48	0,30	OT	"	"	"	"
39. <i>Boy Gounde</i> . 1 m. 66, 70 kg.	27	3	OT	84	0,30	OT	6 atox. 0,70	68	0,30	OT	"	"	"	"
40. <i>Mondongo</i> . . 1 m. 74, 50 kg.	3	3	OT	2.956	1,10	OT	6 atox. 0,70	184	0,40	OT	2	748	0,40	T
41. <i>Mombounou</i> . 1 m. 59, 49 kg.	4	2	OT	824	0,30	OT	6 atox. 0,50	300	0,20	OT	"	"	"	"
42. <i>Mabochi</i> . . . 1 m. 70, 63 kg.	5	3	OT	284	0,50	OT	6 atox. 0,90	100	0,40	OT	"	"	"	"
43. <i>Kimbembe</i> . . 1 m. 52, 45 kg.	13	4	OT	312	0,50	T	6 atox. 0,60	78	0,50	OT	2	288	0,50	T
INJECTIONS DE NÉO														
44. <i>Moulanga</i> . . 1 m. 65, 54 kg	8	5	OT	422	0,60	T	6 néo 0,45 5 émét. 0,08	56	0,40	OT	"	"	"	"
45. <i>Bamboua</i> . . . 1 m. 77, 70 kg.	"	"	T	388	0,25	OT	6 néo 0,60 5 émét. 0,10	266	0,59	OT	3	844	0,60	T
46. <i>N'Dala</i> 1 m. 47, 37 kg.	22	9	T	428	0,30	OT	6 néo 0,45 5 émét. 0,06	68	0,30	OT	"	"	"	"
47. <i>Mavoungou</i> . 1 m. 60, 45 kg.	8	6	T	36	0,20	OT	6 néo 0,30	20	0,20	OT	3	8	0,20	OT
48. <i>Ousmann</i> . . . 1 m. 77, 58 kg	16	11	OT	552	0,40	T	6 néo 0,60	224	0,40	OT	"	"	"	"
49. <i>Boy Moke</i> . . . 1 m. 65, 58 kg.	"	"	T	1.236	0,50	T	6 néo 0,60	224	0,40	OT	1 1/2	456	0,50	T
50. <i>Pouma</i> 1 m. 26, 22 kg.	24	12	T	648	0,50	OT	6 néo 0,15	139	0,30	T	"	"	"	"

subi de traitement que chez celui qui a déjà reçu plusieurs injections, et cela quelle que soit l'ancienneté de l'affection (tableau IV).

Pour obtenir le maximum d'efficacité de la stérilisation périphérique, les nouveaux trypanosomés ont été traités par injections alternées à semaine passée d'atoxyl et d'émétique; l'influence de l'émétique est à éliminer; les résultats peuvent être obtenus avec des injections d'atoxyl seules et ils sont même plus sûrement obtenus ainsi, car l'émétique augmente la réaction méningée (quatrième principe).

On pourrait objecter que le seul fait des ponctions lombaires rapprochées change dans le sens du principe la constitution du liquide céphalo-rachidien. Mais, d'une part, le phénomène se produit en sens inverse avec l'émétique. Le tableau IX montre en effet que, après une série d'émétique, la réaction méningée augmente, alors que la ponction lombaire pratiquée dans les mêmes conditions après une série d'atoxyl révèle une diminution de la réaction méningée.

D'autre part, comme le met en évidence le tableau V, des ponctions lombaires pratiquées en l'absence de tout traitement

TABLEAU V. — Evolution sans traitement de la réaction méningée.

NOMS	TEMPS après diagnostic	TEMPS après traitement	CENTRIFUGATION du sang	LIQUIDE CÉPH.-RACHID.			TEMPS APRÈS	LIQUIDE CÉPH.-RACHID.		
				Cellules	Albumine	Centrifug.		Cellules	Albumine	Centrifug.
	mois	mois					mois			
51. N'Gouna	»	»	OT	368	0,40	OT	1	1.872	0,80	T
52. Mabochi	»	»	OT	136	0,20	OT	1	346	0,20	T
53. Kodja	»	»	OT	168	0,30	OT	2	276	0,50	T
54. Moukanda . . .	14	12	OT	108	0,40	OT	3	872	0,90	T
55. Soumbou	42	3	OT	184	0,60	OT	3	508	0,60	OT
56. Moulandzobo . .	8	6	OT	124	0,20	OT	4	248	0,30	OT
57. Goï	14	12	OT	92	0,30	OT	4	20	0,30	OT
58. Itsoa	8	6	OT	200	»	OT	4	888	0,50	T
59. N'Dioka	84	84	OT	500	0,30	T	4	504	0,30	OT
60. Makoi	65	2	OT	96	0,60	OT	4	480	0,60	OT
61. Mayama	4	1	OT	200	0,50	OT	5	476	0,80	T
62. Lissassi	19	12	OT	116	0,20	OT	6	324	0,40	OT

à intervalles plus ou moins rapprochés révèlent, en général, une augmentation de la réaction méningée.

Influence d'une injection d'atoxyl ou de néo.

Le principe précédent a été acquis avec une série de six injections d'atoxyl. Ce nombre a été choisi d'une façon tout empirique, mais il est important de savoir qu'une seule injection ne suffit pas à produire avec une certaine constance le phénomène; en général, il en faut plusieurs.

TABLEAU VI. — Influence d'une injection d'atoxyl.

NOMS TAILLE POIDS	SANG	LIQUIDE CÉPHALO - RACHID. avant le traitement			TRAITEMENT	LIQUIDE CÉPHALO - RACHID. après la 1 ^{re} injection			TRAITEMENT	LIQUIDE CÉPH. - RACHID. une semaine après le traitement		
		Cellules	Albumine	Centrifug.		Cellules	Albumine	Centrifug.		Cellules	Albumine	Centrifug.
63. <i>Tala NSi.</i> . . 1 m. 48, 42 kg.	T	40	0,10	OT	1 atox. 0,90	44	0,10	OT	5 atox. 0,90 5 émét. 0,06	4	0,10	OT
64. <i>Mondongo.</i> . . 1 m. 74, 50 kg	OT	2.956	1,10	T	1 atox. 0,50	2.712	1,00	OT	5 atox. 0,50	184	0,40	OT
65. <i>Moulengue.</i> . . 1 m. 65, 65 kg.	T	40	0,20	OT	1 atox. 1,10	60	0,20	OT	5 atox. 1,10 5 émét. 0,10	20	0,15	OT
66. <i>M' Bassaka.</i> . . 1 m. 63, 59 kg.	T	72	0,20	OT	1 atox. 0,90	68	0,20	OT	5 atox. 1,00 5 émét. 0,10	20	0,20	OT
67. <i>Louyala.</i> . . . 1 m. 68, 51 kg.	T	184	0,20	OT	1 atox. 1,00	148	0,20	OT	5 atox. 1,00 5 émét. 0,08	12	0,10	OT
68. <i>Sambo</i> 1 m. 74, 58 kg	T	236	0,60	OT	1 atox. 0,90	700	0,90	T	5 atox. 0,90 5 émét. 0,08	40	0,50	OT
69. <i>Bidimbou.</i> . . 1 m. 66, 53 kg.	T	784	0,30	OT	1 atox. 0,80	612	0,30	OT	5 atox. 0,80 5 émét. 0,08	224	0,20	OT
70. <i>Tari.</i> 1 m. 64, 53 kg	T	56	0,20	OT	1 atox. 1,10	148	0,40	OT	5 atox. 1,10 5 émét. 0,10	16	0,30	OT
71. <i>Mete</i> 1 m. 63, 65 kg.	OT	520	0,40	T	1 atox. 0,70	172	0,40	T	5 atox. 0,70	44	0,40	OT
72. <i>Boy Moke.</i> . . 1 m. 65, 58 kg.	T	1.236	0,50	T	1 néo 0,60	932	0,50	OT	5 néo 0,60	224	0,40	OT

Le tableau VI expose le résultat de dix observations (la difficulté de l'expérimentation humaine ne nous a pas permis d'en rassembler davantage).

Ainsi l'on voit que cinq sujets après une seule injection ont eu

la réaction diminuée ; la série a accentué la diminution [obs. 64, 67, 69, 71, 72].

Chez deux sujets dans les mêmes conditions, la réaction méningée n'a pas été sensiblement modifiée par une injection, mais a été en décroissant après la série [obs. 63, 66].

Enfin, trois sujets sous l'influence d'une seule injection ont eu une aggravation de la réaction méningée qui s'est améliorée à la suite de la série d'injections ; il s'est produit là une sorte de réaction de Herxheimer méningée déjà signalée en syphilis par Jeanselme et Chevalier [obs. 65, 68, 70].

Les faits exposés démontrent la nécessité de la série d'injections comme mode de traitement.

TROISIÈME PRINCIPE :

L'amélioration de la réaction méningée et des symptômes cliniques déterminée par des injections d'atoxyl ou de néo est toute transitoire : plus ou moins rapidement lymphocytose et albumine augmentent et l'évolution continue son cours.

Le tableau VII expose le résultat de vingt-huit observations de malades ayant subi une ponction lombaire avant le traitement et une autre un temps variable après la dernière injection.

A ces données, il faut ajouter vingt-six observations fournies par les sujets des tableaux III et IV ayant reçu une ponction lombaire avant le traitement, une seconde immédiatement après, une troisième à un intervalle de quelques mois après la seconde.

En comparant tous ces examens du liquide céphalo-rachidien avant traitement et un temps variable après, on peut les classer en deux catégories suivant qu'il y a eu pendant la période considérée augmentation ou diminution de la réaction méningée.

La modification de la réaction méningée est déterminée par celle de la lymphocytose et de l'albuminose, les deux éléments variant dans le même sens, l'interprétation va de soi. Quand il y a discordance pour établir le sens de la réaction, il faut tenir compte de la grandeur respective de la variation de chaque

TABLEAU VII.

NOMS TAILLE POIDS	TEMPS après diagnostic	TEMPS après traitement	CENTRIFUGATION du sang	LIQUIDE CÉPHALO-RACHID.			TRAITEMENT	MOIS Après	LIQUIDE CÉPHALO-RACHID.		
				Cellules	Albumine	Centrifug.			Cellules	Albumine	Centrifug.
73. <i>Mognele</i> . . . 1 m. 64, 54 kg.	»	»	T	80	0,20	T	6 atox. 0,80 5 émet. 0,10	2	292	0,50	OT
74. <i>Ouatlo</i> . . . 1 m. 81, 85 kg.	»	»	T	100	»	T	6 atox. 1,30 5 émet. 0,10	2	256	0,50	T
75. <i>Loungangue</i> . . 1 m. 63, 65 kg.	»	»	T	2.180	0,70	T	6 atox. 1,00 5 émet. 0,10	2	2.428	0,70	OT
76. <i>Massengo</i> . . . 1 m. 65, 48 kg.	»	»	OT	436	0,40	T	6 atox. 0,50	2	124	0,40	OT
77. <i>N'Zombo</i> . . . 1 m. 44, 35 kg.	»	»	T	812	0,90	T	6 atox. 0,40 5 émet. 0,04	2	600	0,80	T
78. <i>M'Goma</i> . . . 1 m. 70, 57 kg.	»	»	T	842	0,80	T	6 atox. 1,00 5 émet. 0,08	2	432	0,70	T
79. <i>Fode</i> 1 m. 57, 44 kg.	»	»	OT	652	0,70	T	6 atox. 0,80 5 émet. 0,06	2	700	0,40	OT
80. <i>N'Zoyaboua</i> . . 1 m. 73, 55 kg.	8 jours.	8 jours.	OT	556	0,60	OT	5 atox. 0,80 5 émet. 0,08	2	584	0,90	OT
81. <i>Doumbaye</i> . . . 1 m. 64, 61 kg.	8 jours.	8 jours.	OT	456	0,50	OT	5 atox. 0,90 5 émet. 0,10	2	1.132	0,70	OT
82. <i>N'Guienguie</i> . . 1 m. 62, 53 kg.	2 mois.	2 mois.	OT	672	0,60	T	6 atox. 1,00 5 émet. 0,06	2	304	0,50	OT
83. <i>Issebe Itouli</i> . . 1 m. 52, 45 kg.	36 —	8 —	T	64	0,20	OT	6 néo 0,45 5 émet. 0,06	2	140	0,40	OT
84. <i>Moukanda</i> . . . 1 m. 45, 34 kg.	17 —	15 —	OT	802	0,90	T	6 atox. 0,50	2	280	0,60	T
85. <i>M'Babi</i> 1 m. 51, 42 kg.	10 —	8 —	OT	360	0,60	OT	6 atox. 0,80	2	688	0,50	T
86. <i>Mola</i> 1 m. 56, 57 kg.	11 —	9 —	OT	200	0,40	OT	6 atox. 0,80	2	159	0,60	T
87. <i>S. Boumba</i> . . . 1 m. 69, 55 kg.	13 —	6 —	T	400	0,20	T	6 atox. 0,90	2	252	0,20	T
88. <i>Loukongo</i> . . . 1 m. 20, 21 kg.	56 —	55 —	T	264	0,60	T	6 atox. 0,30	2	416	0,50	OT
89. <i>Mandziali</i> . . . 1 m. 51, 49 kg.	10 —	7 —	OT	300	0,30	OT	6 atox. 0,70	2	212	0,30	OT
90. <i>Engembi</i> 1 m. 50, 58 kg.	12 —	12 —	OT	890	0,50	OT	6 néo 0,50 5 émet. 0,08	3	392	0,60	T
91. <i>Doulou</i> 1 m. 56, 40 kg.	»	»	T	576	0,70	T	6 atox. 0,60 5 émet. 0,06	3	496	0,80	T
92. <i>Boy Gounde</i> . . 1 m. 66, 67 kg.	22 mois.	7 mois.	T	28	0,30	OT	6 néo 0,45 5 émet. 0,06	3	84	0,30	OT
93. <i>Liouandza</i> . . . 1 m. 70, 63 kg.	20 —	12 —	T	284	0,50	T	6 néo 0,30 5 émet. 0,10	3	804	0,70	T

NOMS TAILLE POIDS	TEMPS après diagnostic	TEMPS après traitement	CENTRIFUGATION du sang	LIQUIDE CÉPHALO-RACHID.			TRAITEMENT	MOIS Après	LIQUIDE CÉPHALO-RACHID.		
				Cellules	Albumine	Centrifug.			Cellules	Albumine	Centrifug.
94. <i>Bondo</i> . . . 1 m. 62, 52 kg.	20 mois.	20 mois.	OT	35	0,50	OT	6 néo 0,45	3	64	0,20	OT
95. <i>Damocogna</i> . 1 m. 63, 53 kg.	"	"	T	160	0,20	T	6 atox. 1,00 5 émét. 0,08	4	312	0,60	T
96. <i>M'Bata</i> . . . 1 m. 75, 69 kg.	10 mois.	6 mois.	T	270	"	T	6 néo 0,70 5 émét. 0,10	4	1.400	0,50	OT
97. <i>Moulanzobo</i> . 1 m. 65, 58 kg.	12 —	10 —	OT	248	0,30	OT	6 atox. 0,90	4	204	0,30	OT
98. <i>Kanza</i> . . . 1 m. 69, 60 kg.	2 —	1 —	OT	60	0,20	OT	6 atox. 1,00 5 émét. 0,10	4	148	0,40	OT
99. <i>Sole</i> . . . 1 m. 57, 44 kg.	7 —	6 —	OT	150	0,70	T	6 néo 0,30 5 émét. 0,08	5	692	0,60	OT
100. <i>Yaffara</i> . . 1 m. 75, 69 kg.	2 —	2 —	OT	80	0,50	T	6 atox. 1,00 5 émét. 0,10	5	244	0,80	OT

TABLEAU VIII.

TEMPS après traitement	NOMBRE DE CAS	RÉPARTITION DES CAS	PROPORTION DES CAS suivant la modification de la réaction méningée considérée avant et après traitement	
1 mois 1/2 à 2 mois.	34 cas.	17 avec 2 ponctions lombaires. 17 avec 3 ponctions lombaires.	9 R. M. augmentées. 7 R. M. diminuées. 1 R. M. douteuse. 6 R. M. augmentées. 10 R. M. diminuées. 1 R. M. douteuse.	15 R. M. augmentées. 17 R. M. diminuées. 2 R. M. douteuses.
3 mois.	11 cas.	5 avec 2 ponctions lombaires. 6 avec 3 ponctions lombaires.	2 R. M. augmentées. 2 R. M. diminuées. 1 R. M. douteuse. 3 R. M. augmentées. 2 R. M. diminuées. 1 R. M. douteuse.	5 R. M. augmentées. 4 R. M. diminuées. 2 R. M. douteuses.
4 mois à 5 mois.	9 cas.	6 avec 2 ponctions lombaires. 3 avec 3 ponctions lombaires.	5 R. M. augmentées. 1 R. M. diminuée. 1 R. M. augmentée. 2 R. M. diminuées.	6 R. M. augmentées. 3 R. M. diminuées.

élément. Sur les cinquante-quatre observations huit ont des modifications du liquide céphalo-rachidien discordantes.

Les observations [85-88] ayant une diminution de 0,10 d'albumine et au contraire une notable augmentation de la lymphocytose doivent être considérées comme des réactions méningées augmentées. Pour les raisons inverses, les observations [90-91] ont des réactions méningées diminuées. Quant aux observations 35, 36, 79, 94, la proportion des variations inverses étant sensiblement la même, il est impossible de tirer des conclusions. Dans ce cas, pour suivre l'évolution, il faut faire un autre examen du liquide céphalo-rachidien à un intervalle plus ou moins rapproché. Momentanément les modifications sont douteuses.

Ces explications données, les résultats fournis par les tableaux III, IV, VII peuvent être schématisés comme il suit tableau VIII.

Ainsi il apparaît clairement que le résultat obtenu sous l'influence immédiate du traitement en conformité du premier principe se perd sous l'influence du repos et proportionnellement à la durée de celui-ci. Si bien que la réaction méningée qui, une semaine après le traitement, ne se trouve être augmentée que dans 6 p. 100 des cas (voir plus haut) subit dans la suite les modifications suivantes : un mois et demi à deux mois après, l'augmentation s'élève à 46,9 p. 100 des cas (15 augmentations pour 17 diminutions) puis trois mois après à 55,5 p. 100 (5 augmentations pour 4 diminutions), enfin quatre à cinq mois après à 66,6 p. 100 (6 augmentations pour 3 diminutions).

QUATRIÈME PRINCIPE :

Les injections d'émétique ne diminuent pas la réaction méningée et ont tendance au contraire à provoquer une augmentation de celle-ci.

Le tableau IX met ce fait en évidence en montrant que ces réactions méningées aggravées par l'émétique (ce qui a arrêté les expérimentations) sont au contraire améliorées par l'atoxyl conformément au premier principe.

Cette divergence d'action de l'atoxyl et de l'émétique est

TABLEAU IX. — Influence des injections d'émétique.

NOMS	CENTRIFUGATION du sang	LIQUIDE CÉPH.-RACHID.			TRAITEMENT	LIQUIDE CÉPHALO - RACHID. 1 semaine après le traitement			TRAITEMENT 1 semaine après émétique	LIQUIDE CÉPHALO - RACHID. 1 semaine après le traitement		
		Cellules	Albumine	Centrifug.		Cellules	Albumine	Centrifug.		Cellules	Albumine	Centrifug.
101. <i>Massamba</i> . . . 1 m. 67, 59 kg.	OT	248	0,50	T	6 émet. 0,08	204	0,50	T	6 atox. 0,60	64	0,50	T
102. <i>M'Bassi</i> . . . 1 m. 64, 44 kg.	T	464	0,50	T	6 émet. 0,06	2.016	0,80	T	6 atox. 0,60	120	0,40	OT
103. <i>N'Tari</i> . . . 1 m. 64, 65 kg.	OT	172	0,30	OT	6 émet. 0,10	500	0,30	OT	6 atox. 0,80	8	0,10	OT
104. <i>N'Toni</i> . . . 1 m. 63, 57 kg.	OT	488	0,90	T	6 émet. 0,08	1.228	0,90	T	6 atox. 0,80	450	0,80	OT
INFLUENCE D'UNE INJECTION D'ÉMÉTIQUE												
105. <i>N'Toni</i> . . .	OT	488	0,90	T	1 émet. 0,08	756	0,90	T	5 émet. 0,08	1.228	0,90	T
106. <i>M'Bassi</i> . . .	T	464	0,50	T	1 émet. 0,06	1.168	0,70	T	5 émet. 0,06	2.016	0,80	T

intéressante à connaître ; elle avait déjà été entrevue par les médecins expérimentant ces médicaments, et dès 1909, G. Martin, Lebœuf et Ringenbach (1) signalent en effet que l'émétique agissait avec beaucoup moins de rapidité, sinon d'efficacité, sur les parasites du liquide céphalo-rachidien.

LES RÉSULTATS

Les principes précédents exposés, *il semble dès lors que la thérapeutique rationnelle de la maladie du sommeil à la deuxième période doive viser à diminuer graduellement la réaction méningée par des séries d'injections d'atoxyl ou de néo faites à intervalles tels que la réaction méningée ne reprenne jamais son taux primitif.*

Comme l'atoxyl est le médicament de choix en trypanoso-

(1) G. MARTIN, LEBŒUF et RINGENBACH, Sur le traitement de la trypanosomiase humaine. *Bu'l. Soc. Path. Exot.*, 1909, p. 311.

miase (voie sous-cutanée, modicité de prix) il a fait presque uniquement l'objet de l'expérimentation.

D'après le quatrième principe, l'émétique a une action plutôt nuisible sur la réaction méningée; aussi dans le cas où l'on croit devoir y recourir, il y a intérêt à ne l'employer qu'en une seule série associée à l'atoxyl; ensuite il faut en suspendre l'usage comme base du traitement à la deuxième période.

Suivant le premier principe, les trypanosomés deuxième période ne doivent pas être traités par de très fortes doses d'atoxyl.

Quant à la question d'intervalle entre les séries (les doses étant toujours hebdomadaires) d'une part le troisième principe enseigne que deux mois après le traitement la réaction méningée peut déjà dépasser son taux primitif. D'autre part, il faut tenir compte de l'accumulation de l'arsenic dans l'organisme et du danger d'intoxication. Pour ces deux raisons, l'intervalle de deux mois paraît être la meilleure solution du problème, aussi est-ce celui vers lequel doit tendre la répétition des séries.

Schématiquement la méthode de traitement à la deuxième période est donc la suivante :

Distinguer chez les trypanosomés deuxième période deux catégories : A. trypanosomés à circulation périphérique infestée (présence de trypanosomes dans les ganglions ou dans le sang), B. trypanosomés à circulation périphérique stérilisée.

CATÉGORIE A. — Une série d'attaque atoxyl-émétique ou d'atoxyl seul pour stériliser la circulation périphérique. Eviter les très fortes doses d'atoxyl; si on emploie l'émétique, l'employer aux doses classiques; ensuite tendre à répéter les séries d'atoxyl à intervalle de deux mois.

CATÉGORIE B. — Traiter uniquement par des séries d'atoxyl à intervalle de deux mois.

52 malades ont été ainsi traités, le tableau X classe les malades suivant le nombre des séries et indique les résultats, la période d'observation pour chaque malade ayant varié de 9 à 12 mois :

TABLEAU X.

NOMBRE TOTAL	CLASSIFICATION EN SÉRIES	RÉSULTAT
30 nouveaux trypanosomés.	10 sujets. 3 séries.	1 amaurose suivie de décès. 1 décès. 7 vivants.
	20 Id. 2 Id.	2 amauroses. 2 décès. 17 vivants.
22 anciens trypanosomés.	1 sujet. 4 séries.	En vie. 2 amauroses (dont une suivie de décès).
	8 sujets. 3 Id.	2 décès. 4 en vie.
	13 Id. 2 Id.	1 amaurose. 1 décès. 11 en vie.

Il est maintenant nécessaire d'examiner séparément les résultats.

Les troubles oculaires. Les décès.

Les trypanosomés survivants.

Les troubles oculaires.

Dès le début de l'emploi de l'atoxyl en trypanosomiase on signala la perte de la vue comme complication du traitement (1). Les accidents paraissant imputables à la toxicité propre du produit, on devint alors très prudent dans le maniement de ce médicament et l'on peut dire que la hantise de l'amaurose guida toujours les essais des expérimentations en pathologie humaine.

Notre pratique systématique de la ponction lombaire chez tout trypanosomé, en vue d'établir le stade de l'infection, nous permet d'apporter un certain critérium à la production des troubles visuels.

(1) Voir pour toute la bibliographie l'article récent de AYRES KOPKES, Les troubles oculaires de la maladie du sommeil. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1922, p. 136, et note additionnelle de Morax.

D'après les observations de 6 cas d'amaurose résumés ci-après (obs. 107 à 112) les faits suivants peuvent être mis en relief :

1° Avec la méthode de traitement des injections hebdomadaires d'atoxyl, les troubles visuels ne sont survenus que chez les malades à la deuxième période, c'est-à-dire ayant une réaction méningée. Les trypanosomés première période, c'est-à-dire à liquide céphalo-rachidien normal, ont toujours été traités sans aucun accident, et cela malgré l'emploi chez ces derniers des très fortes doses d'atoxyl.

Il est utile d'insister sur la notion des injections hebdomadaires, car Broden et Rodhain (1) ont communiqué que chez 77 malades à la première période traités par des doses d'atoxyl 0,50 chaque dixième et onzième jour (méthode de Koch), trois sont devenus aveugles après d'ailleurs plus de 50 doses d'atoxyl à 0,50; au contraire ils font remarquer aussi qu'aucun trouble visuel ne s'est produit chez leurs malades première période traités par des doses d'un gramme chaque semaine (2);

2° Chez les « nouveaux trypanosomés » deuxième période, c'est-à-dire indemnes jusque-là de tout traitement, l'amaurose n'est survenue qu'après plusieurs séries d'injections;

3° Chez les « anciens trypanosomés » deuxième période, c'est-à-dire ayant déjà subi un traitement, un cas d'amaurose est survenu après une série de très fortes doses (6 atoxyl, 1 gramme. Poids, 50 kilogrammes. Obs. 107). Les autres cas n'ont eu lieu qu'après plusieurs séries d'injections. Les très fortes doses prédisposent donc à l'amaurose et ce fait renforce notre principe d'interdiction des très fortes doses aux trypanosomés deuxième période;

4° La question de dose (dose unique ou dose totale), c'est-à-dire de toxicité propre de l'atoxyl, ne conditionne pas exclusivement la production des troubles oculaires; d'une part, en

(1) A. BRODEN et J. RODHAIN, L'atoxyl dans le traitement de la trypanose humaine. *Ann. de la Soc. belge de Med. tropicale*, 1920-1921, n° 2, p. 177.

(2) On a vu dans la deuxième partie de ce travail (traitement de la première période) qu'il était cependant très prudent de n'employer les fortes doses d'atoxyl (de 0,015 à 0,02), c'est-à-dire celles qui oscillent entre 1 gr. et 1 gr. 25, qu'à intervalle assez long qui peut être fixé pour la commodité du médecin et de l'indigène à deux semaines, et c'est à cette périodicité que nous conseillons de donner le choix.

effet, des malades à réaction méningée, comme le montrent les observations 121 à 128, ont reçu des doses beaucoup plus fortes d'atoxyl et des séries au moins aussi nombreuses à intervalle semblable sans inconvénient.

D'autre part les accidents oculaires n'ont été accompagnés d'aucun signe d'intoxication arsenicale, ainsi qu'en témoignent les observations 107 à 112; il n'y a pas eu diminution de poids sensible au cours du traitement, ce qui est un symptôme important de l'intoxication médicamenteuse;

5° Les troubles oculaires ne sont survenus ni brusquement, ni immédiatement après la série d'atoxyl. Pour 4 malades (obs. 107, 108, 109, 111) le début a eu lieu deux semaines environ après la dernière injection et l'amaurose a été définitive en une huitaine de jours. Pour un malade, début une semaine après, définitif en deux semaines. Pour le dernier malade, l'évolution a été encore plus lente;

6° Pour un cas (obs. 110) l'amaurose survenue deux mois après une série d'injections a été accélérée par la reprise du traitement; chez les autres malades, la reprise du traitement ne pouvait être posée.

Au point de vue étiologie, les troubles oculaires de la trypanosomiase semblent pouvoir être classés dans la catégorie des accidents appelés « neuro-récidives » en syphilis.

Ils ne sont point spéciaux à l'atoxyl ni à la trypanosomiase; s'ils ont été observés avec le maximum de fréquence chez les malades du sommeil, c'est que du fait même de l'évolution de l'affection, le système nerveux est rapidement atteint et qu'en milieu indigène, on s'adresse souvent, comme le témoigne la pratique des ponctions lombaires, à des malades deuxième période.

Quant à la pathogénie, l'exposé des faits précédents tend à montrer qu'il faut faire intervenir dans le déterminisme du phénomène les deux facteurs : toxicité ou mieux neurotropisme de l'atoxyl, infection des centres nerveux par les trypanosomes.

Les troubles oculaires au cours du traitement.

OBSERVATION 107. — *Atipoko*. Reconnu trypanosomé le 28 avril 1918 (ganglion, T). Taille, 1 m. 57; poids, 42 kilogrammes; mauvais état général.

1^{re} série de traitement : 4 atoxyl à 0 gr. 50 du 28 avril au 25 mai 1918. Le

23 avril 1921 : poids, 52 kilogrammes ; sang et ganglion, OT ; liquide céphalo-rachidien, 308 cellules, 0,50 d'albumine, T ; somnolence ; troubles de la marche.

2^e série de traitement : 6 atoxyl à 1 gramme du 25 avril au 7 juin 1921. Le 14 juin 1921 : poids, 50 kilogrammes ; sang et ganglion, OT ; liquide céphalo-rachidien, 52 cellules, 0,20 d'albumine, OT. Le 28 juin : début de l'amaurose. Le 5 juillet : amaurose totale ; poids, 50 kilogrammes. Le 20 septembre 1921 : mort.

OBSERVATION 108. — *N'guienguié*. Reconnu trypanosomé le 19 mai 1921 (ganglion, T). Taille, 1 m. 62 ; poids, 63 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 76 cellules, 0,20 d'albumine, OT ; bon état apparent. Reçoit 1 gramme d'atoxyl, le 19 mai, jour du diagnostic. Le 2 juin : ganglion et sang, OT ; liquide céphalo rachidien, 808 cellules, 0,40 d'albumine, OT. Le 26 juillet 1921 : poids, 53 kilogrammes ; ganglion et sang, OT ; liquide céphalo-rachidien, 672 cellules, 0,60 d'albumine, T.

1^{re} série de traitement : 6 atoxyl à 1 gramme et 5 émétique à 0,06 du 26 juillet au 4 octobre. Le 13 décembre : poids, 53 kilogrammes ; ganglion et sang, OT ; liquide céphalo-rachidien, 308 cellules, 0,50 d'albumine, OT. Toujours bon état apparent.

2^e série de traitement : 6 atoxyl à 0,60 du 13 décembre 1921 au 17 janvier 1922. Le 31 janvier 1922 : poids, 53 kilogrammes ; début d'amaurose. Le 6 février : poids, 54 kilogrammes ; amaurose totale.

OBSERVATION 109. — *Kipoani*. Reconnu trypanosomé le 23 mars 1921 (ganglion, T). Taille, 1 m. 60 ; poids, 42 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 148 cellules, 0,35 d'albumine, OT ; céphalée-asthénie.

1^{re} série de traitement : 6 atoxyl à 0,80 et 5 émétique à 0,06 du 23 mars au 31 mai. Le 10 juin : poids, 41 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 263 cellules, 0,30 d'albumine, OT. Disparition de la céphalée. Le 1^{er} août : poids, 45 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 212 cellules, 0,30 d'albumine, OT. Le 15 septembre : poids, 44 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 860 cellules, 0,40 d'albumine, T. ; ganglion et sang, OT.

2^e série du traitement : 6 atoxyl à 0,50 du 15 septembre au 18 octobre. Le 23 décembre : poids, 44 kilogrammes ; sang et ganglion, OT ; liquide céphalo-rachidien, 536 cellules, 0,40 d'albumine, T.

3^e série de traitement : 6 atoxyl à 0,50 du 23 décembre 1921 au 31 janvier 1922. Le 14 février : poids, 43 kilogrammes ; début d'amaurose. Le 21 février : amaurose. Le 2 mars, décès.

OBSERVATION 110. — *Dandia*. Reconnu trypanosomé le 24 décembre 1919 (ganglion, T). Taille, 1,61 ; poids, 61 kilogrammes ; bon état apparent.

1^{re} série de traitement : 3 atoxyl à 1 gramme du 24 décembre 1919 au 20 février 1920. Le 28 mars : poids, 61 kilogrammes ; bon état apparent ; ganglion et sang, OT ; liquide céphalo-rachidien, 60 cellules, 0,40 d'albumine, OT.

2^e série de traitement : 6 atoxyl à 1 gramme et 5 émétique à 0,08 du 28 mars au 14 juin. Le 22 juin : poids, 57 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 24 cellules, 0,20 d'albumine, OT. Le 14 septembre, poids, 63 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 124 cellules, 0,50 d'albumine, OT.

3^e série de traitement : 6 atoxyl à 0,70 du 14 septembre au 18 octobre. Le 24 octobre : poids, 64 kilogrammes ; liquide céphalo rachidien, 32 cellules, 0,30 d'albumine, OT. Le 22 décembre : poids, 64 kilogrammes ; liquide

céphalo-rachidien, 100 cellules, 0,40 d'albumine, OT; se plaint d'une diminution de la vue.

4^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,70 du 22 décembre 1920 au 31 janvier 1921; troubles visuels plus accentués. Le 14 mars: poids, 63 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 112 cellules, 0,50 d'albumine, OT. Le 4 avril: amaurose totale. Le 31 mai: même état.

OBSERVATION 111. — *Solé*. Reconnu trypanosomé le 31 mai 1920 (ganglion T). Taille, 1,57; poids, 44 kilogrammes; hébétude; contraction des muscles de la face.

1^{re} série de traitement: 6 atoxyl à 0,75, 5 émétique à 0,06 du 31 mai au 6 août. Le 18 janvier 1921: poids, 43 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 150 cellules, 0,75 d'albumine, T; même état.

2^e série de traitement: 6 néo à 0,30 et 0,75, 5 émétique à 0,08 du 18 janvier au 29 mars. Le 26 juillet: poids, 48 kilogrammes; sang et ganglion, OT; liquide céphalo-rachidien, 692 cellules, 0,60 d'albumine, T; amélioration avec persistance des contractions musculaires. Le 30 août: poids, 51 kilogrammes.

3^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,50 du 30 août au 4 octobre.

4^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,70 du 6 décembre 1921 au 10 janvier 1922. Le 24 janvier: début d'amaurose. Le 31 janvier: amaurose totale; poids, 50 kilogrammes. Le 14 mars: sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 288 cellules, 0,70 d'albumine, T. Le 28 mars: décès.

OBSERVATION 112. — *Massamba*. Reconnu trypanosomé le 3 novembre 1914 (ganglion, T). Taille, 1 m. 57; poids, 59 kilogrammes. Reçoit 7 atoxyl à 0,60 et 3 émétique à 0,10 du 3 novembre au 12 juillet 1914; puis 12 atoxyl à 0,20 du 6 septembre 1920 au 3 mai 1921. Le 4 juillet 1921: poids, 55 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 248 cellules, 0,50 d'albumine, OT; impotence, tremblements. Reçoit 6 émétique à 0,08 du 4 juillet au 9 août. Le 16 août, même état; liquide céphalo-rachidien, 204 cellules, 0,50 d'albumine, OT.

Série de 6 atoxyl à 0,60 du 16 août au 4 octobre. Le 17 octobre: poids, 54 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 64 cellules, 0,50 d'albumine, OT; troubles de la marche beaucoup moins accentués. Le 24 décembre: poids, 54 kilogrammes; sang et ganglion, OT; liquide céphalo-rachidien, 360 cellules, 0,40 d'albumine, T.

Série de 6 atoxyl à 0,60 du 29 décembre 1921 au 30 janvier 1922. Le 16 février: début d'amaurose. Le 28 février: poids, 53 kilogrammes; amaurose totale. Le 14 mars: poids, 50 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 304 cellules, 0,50 d'albumine, T; à part l'amaurose, état général apparent satisfaisant. Le 31 mai: poids, 50 kilogrammes; même état.

Les décès.

Sur 52 malades considérés pendant une période d'observation qui a varié de neuf à douze mois, il y a eu à enregistrer: quatre décès sur les trente nouveaux trypanosomés, quatre décès sur les vingt-deux anciens trypanosomés.

Les huit observations sont résumées ci-après.

Deux observations concernent des malades au stade du début

de la deuxième période (observation 117 : nouveau trypanosomé. Observation 120 : ancien trypanosomé). Les symptômes cliniques étaient absents ou réduits au minimum et seule la ponction lombaire a classé ces malades comme étant à la deuxième période. En ce qui concerne ces deux malades, la mort est survenue avec trois séries au bout d'un an ; il semble bien que le traitement n'ait fait qu'accélérer l'évolution.

Deux malades au stade d'état sont décédés au cours de la deuxième série (observation 113), après deux injections d'atoxyl à 0,50, pour poids 42 kilogrammes ; brusquement le patient a été pris de tremblements généralisés pendant quelques jours, puis coma (observation 119), crise convulsive et mort après trois injections 0,70 d'une troisième série. Dans les deux cas, au moment de la reprise du traitement, l'état était satisfaisant avec poids stationnaire. Vu les doses en cause il ne peut être question d'intoxication, il faut faire intervenir un neurotropisme de l'atoxyl comme pour les troubles oculaires.

Quant aux autres sujets, vu le stade de la maladie, il est difficile d'interpréter l'évolution naturelle ou provoquée par le traitement. Mais quoi qu'il en soit, il faut remarquer qu'au cours du traitement, il n'y a aucun signe d'intoxication ; et notamment le poids n'a pas sensiblement diminué pendant la période de validité relative du malade. Une fois le malade alité et grabataire, la variation de poids n'a plus de valeur.

Observations des décédés.

OBSERVATION 113. — *Doulou*. Reconnu trypanosomé le 26 septembre 1921 (ganglion, T) ; liquide céphalo-rachidien, 576 cellules, 0,70 d'albumine, T. Taille, 1 m. 56 ; poids, 40 kilogrammes ; somnolence.

1^{re} série de traitement : 6 atoxyl à 0,60, 5 émétique à 0,06 du 26 septembre au 6 décembre. Le 7 mars 1922 : poids, 42 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 496 cellules, 0,70 d'albumine, T ; somnolence et tremblements généralisés.

2^e série de traitement : 2 atoxyl à 0,50 du 7 au 14 mars. Le 19 mars : coma, décès.

OBSERVATION 114. — *Folo*. Reconnu trypanosomé le 1^{er} avril 1921 (sang, T.) ; liquide céphalo-rachidien, 400 cellules, 0,30 d'albumine, OT. Taille, 1 m. 67 ; poids, 67 kilogrammes ; excitation.

1^{re} série de traitement : 6 atoxyl à 0,80, 5 émétique à 0,08 du 1^{er} avril au 7 juin. Le 14 juin : poids, 53 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 196 cellules, 0,50 d'albumine, OT ; état général amélioré. Le 5 novembre, poids 62 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 268 cellules, 0,40 d'albumine, OT ; bon état général.

2^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,80 du 5 novembre au 16 décembre 1921. Le 30 janvier 1922: poids, 65 kilogrammes; ganglion et sang, OT; assez bon état. Le 15 février 1922: décès.

OBSERVATION 115. — *Bamboua*. Reconnu trypanosomé le 4 avril 1921 (ganglion, T). Liquide céphalo-rachidien, 388 cellules, 0,25 d'albumine, OT. Taille, 1 m. 77; poids, 70 kilogrammes; somnolence, troubles de la marche.

1^{re} série de traitement: 6 néo à 0,60, 5 émétique à 0,10 du 4 avril au 14 juin. Le 24 juin: poids, 69 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 256 cellules, 0,50 d'albumine, OT; état général amélioré. Le 24 septembre: poids, 71 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 844 cellules, 0,60 d'albumine, T.

2^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,90 du 24 septembre au 4 novembre 1921. Le 13 janvier 1922: poids, 72 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 684 cellules, 0,90 d'albumine, T; même état apparent.

3^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,90 du 13 janvier au 24 février. Le 11 avril: poids, 74 kilogrammes; ganglion et sang. OT; impotence complète. Le 26 avril, mort.

OBSERVATION 116. — *Itoua*. Reconnu trypanosomé le 29 janvier 1921 (ganglion, T). Taille, 1 m. 55; poids, 47 kilogrammes; bon état apparent.

1^{re} série de traitement: 6 atoxyl à 0,70 et 6 injections de sérum intrarachidien du 29 janvier au 6 juillet. Le 14 septembre: poids, 55 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 304 cellules, 0,60 d'albumine, T.

2^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,60 du 14 septembre au 25 octobre. Le 2 novembre: poids, 54 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 364 cellules, 0,70 d'albumine, T; bon état apparent. Le 31 décembre: poids, 52 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 472 cellules, 0,80 d'albumine, T; sang et ganglion, OT.

3^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,80 du 31 décembre 1921 au 7 février 1922. Le 28 mars: poids, 53 kilogrammes; impotence. Le 16 mai: crise convulsive, décès.

OBSERVATION 117. — *Kifoani* (Obs. 109). Reconnu trypanosomé le 23 mars 1921. Liquide céphalo-rachidien, 148 cellules, 0,40 d'albumine, OT; amaurose.

OBSERVATION 118. — *Salé* (Obs. 111). Reconnu trypanosomé le 31 mai 1920 (sang, T). Liquide céphalo-rachidien (janvier 1921), 150 cellules, 0,75 d'albumine, T; amaurose.

OBSERVATION 119. — *Bondo*. Reconnu trypanosomé le 7 juillet 1911 (ganglion, T). Taille, 1 m. 62; poids, 55 kilogrammes; bon état. Reçoit 1 atoxyl à 0,80 le 7 juillet et disparaît. Le 9 mars 1921: poids, 52 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 35 cellules, 0,50 d'albumine, OT; impotence; tremblements.

1^{re} série de traitement: 6 néo de 0,45 à 0,90 du 9 mars au 3 mai. Le 9 août: poids, 49 kilogrammes; état général amélioré; liquide céphalo-rachidien, 64 cellules, 0,20 d'albumine, OT.

2^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,70 du 13 septembre au 18 octobre. Le 24 décembre: poids, 50 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 52 cellules, 0,20 d'albumine, OT.

3^e série de traitement: 3 atoxyl à 0,70 du 24 décembre 1921 au 10 janvier 1922. Le 17 janvier, crise convulsive. Le 18 janvier, mort.

OBSERVATION 120. — *Boy Goundé*. Reconnu trypanosomé le 2 juin 1919 (ganglion, OT; sang, T). Taille, 1 m. 66: poids, 67 kilogrammes; bon état.

Reçoit 19 atoxyl à 0,90, 13 émétique à 0,10 du 2 juin 1919 au 20 août 1920. Le 25 mars 1921 : poids, 68 kilogrammes ; bon état apparent ; sang, T. ; liquide céphalo-rachidien, 28 cellules, 0,25 d'albumine, OT.

1^{re} série de traitement : 6 néo de 0,43 à 0,90, 5 émétique à 0,10 du 25 mars au 3 juin. Le 9 septembre : poids, 70 kilogrammes ; bon état apparent ; liquide céphalo-rachidien, 84 cellules, 0,30 d'albumine, OT.

2^e série de traitement : 6 atoxyl à 0,70 du 9 septembre au 14 octobre. Le 21 octobre : poids, 70 kilogrammes ; bon état apparent ; liquide céphalo-rachidien, 68 cellules, 0,30 d'albumine, OT.

3^e série de traitement : 6 atoxyl à 0,90 du 23 décembre 1921 au 3 février 1922. Le 14 avril : poids, 72 kilogrammes ; brusquement, hébétude et somnolence. Le 4 mai : décès.

Les survivants.

Nous résumons ici quelques observations de malades actuellement vivants.

Ainsi l'on constate bien que l'effet des séries d'injections est de diminuer graduellement la réaction méningée en agissant surtout sur le nombre des cellules, la quantité d'albumine variant beaucoup moins.

Parmi les observations relatées deux sont particulièrement typiques ; ce sont les observations 121, 125 où l'on a pratiqué une ponction lombaire immédiatement après traitement et environ deux mois après.

OBSERVATION 121. — *Mboyo*. Reconnu trypanosomé le 21 mars 1921. Taille, 1 m. 70 ; poids, 56 kilogrammes ; troubles accentués de la démarche ; tremblements généralisés ; hébétude ; ganglion et sang, OT ; liquide céphalo-rachidien, 2084 cellules, 0,70 d'albumine, T.

1^{re} série de traitement : 6 atoxyl à 0,90, 5 émétique à 0,10 du 21 mars au 31 mai. Le 7 juin : poids, 62 kilogrammes ; grande amélioration ; liquide céphalo-rachidien, 72 cellules, 0,40 d'albumine, OT. Le 14 septembre : poids, 65 kilogrammes ; bon état apparent ; liquide céphalo-rachidien, 580 cellules, 0,60 d'albumine, T.

2^e série de traitement : 6 atoxyl à 0,90 du 14 septembre au 18 octobre. Le 25 octobre : poids, 68 kilogrammes ; assez bon état ; liquide céphalo-rachidien, 186 cellules, 0,40 d'albumine, OT. Le 22 décembre : poids, 68 kilogrammes ; liquide céphalo-rachidien, 308 cellules, 0,70 d'albumine, OT.

3^e série de traitement : 6 atoxyl à 0,80 du 22 décembre 1921 au 14 février 1922. Le 21 mars : poids, 70 kilogrammes ; impotence presque complète ; tremblements. Le 31 mai : poids, 70 kilogrammes ; ganglion et sang, OT ; même état.

OBSERVATION 122. — *Boy Moké*. Reconnu trypanosomé le 18 juillet 1921 (sang, T). Taille, 1 m. 65 ; poids, 58 kilogrammes ; somnolence ; hébétude ; troubles de la marche ; liquide céphalo-rachidien, 1,236 cellules, 0,50 d'albumine, T.

1^{re} série de traitement: 6 néo de 0,60 à 0,75 du 18 juillet au 30 août. Le 10 septembre: poids, 59 kilogrammes; disparition de la somnolence; troubles de la marche moins accentués; liquide céphalo-rachidien, 234 cellules, 0,40 d'albumine, OT. Le 19 octobre: poids, 61 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 456 cellules, 0,50 d'albumine, T.

2^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,70 du 19 octobre au 22 novembre. Le 14 janvier 1922: 69 kilogrammes; assez bon état; liquide céphalo-rachidien, 212 cellules, 0,50 d'albumine, T.

3^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,90 du 14 janvier au 21 février. Le 28 mars: poids, 73 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 236 cellules, 0,50 d'albumine, OT. Le 31 mai: poids, 73 kilogrammes; même état.

OBSERVATION 123. — *Loungangué*. Reconnu trypanosomé le 4 juillet 1921 (ganglion, T). Liquide céphalo-rachidien, 2,180 cellules, 0,70 d'albumine, T. Taille, 1 m. 63; poids, 65 kilogrammes; somnolence; céphalée.

1^{re} série: 6 atoxyl à 1 gramme, 5 émétique à 0,10 du 4 juillet au 9 septembre. Le 5 novembre: poids, 68 kilogrammes; somnolence disparue; liquide céphalo-rachidien, 2,428 cellules, 0,70 d'albumine, OT.

2^e série: 6 atoxyl à 0,90 du 5 novembre au 9 décembre. Le 8 mars 1922: poids, 60 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 572 cellules, 0,30 d'albumine, OT. Le 31 mai: même état.

OBSERVATION 124. — *Ibaranden*. Reconnu trypanosomé le 11 juillet 1921 (ganglion, T). Liquide céphalo-rachidien, 1,040 cellules, 0,70 d'albumine, T. Taille, 1 m. 65; poids, 65 kilogrammes; tremblements.

1^{re} série de traitement: 6 atoxyl à 1,10, 5 émétique à 0,10 du 11 juillet au 13 septembre. Le 21 septembre: poids, 62 kilogrammes; état général amélioré; liquide céphalo-rachidien, 108 cellules, 0,40 d'albumine, OT. Le 16 novembre: poids, 60 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 560 cellules, 0,50 d'albumine, OT.

2^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,80 du 17 novembre au 20 décembre. Le 30 décembre: poids, 60 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 208 cellules, 0,50 d'albumine, OT. Le 1^{er} mars 1922: poids, 57 kilogrammes; même état; liquide céphalo-rachidien, 376 cellules, 0,30 d'albumine, OT. Le 31 mai: même état.

OBSERVATION 125. — *Ngoma Batéké*. Reconnu trypanosomé le 10 mars 1920 (ganglion et sang, T). Taille 1 m. 72; poids, 61 kilogrammes; bon état apparent.

1^{re} série de traitement: 6 atoxyl à 1 gramme, 5 émétique à 0,10 du 10 mars au 17 septembre. Le 15 avril 1921: sang, T; liquide céphalo-rachidien, 124 cellules, 0,20 d'albumine, OT.; bon état apparent.

2^e série de traitement: 6 atoxyl à 1,20, 5 émétique à 0,10 du 15 avril au 21 juin. Le 27 juin: poids, 65 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 24 cellules, 0,20 d'albumine, OT. Le 10 septembre: poids, 66 kilogrammes, liquide céphalo-rachidien, 128 cellules, 0,20 d'albumine, OT; même état

3^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,70 du 10 septembre au 21 octobre. Le 28 octobre: poids, 65 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 44 cellules, 0,20 d'albumine, OT. Le 6 janvier 1922: poids, 63 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 140 cellules, 0,30 d'albumine, OT,

4^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,90 du 6 janvier au 3 mars. Le 31 mai: poids, 65 kilogrammes; ganglion et sang, OT; bon état apparent.

OBSERVATION 126. — *Moulanzobo*. Reconnu trypanosomé le 18 octobre 1920 (ganglion, T). En bon état apparent; taille, 1 m. 65; poids, 59 kilogrammes.

1^{re} série de traitement: 6 atoxyl à 1 gramme, 5 émétique à 0,10 du 18 octobre au 21 décembre. Le 17 juin 1921: poids, 58 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 124 cellules, 0,20 d'albumine, OT. Le 21 octobre: poids, 60 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 248 cellules, 0,30 d'albumine, OT.

2^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,90 du 21 octobre au 25 novembre. Le 13 janvier 1922: poids, 58 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 204 cellules, 0,30 d'albumine, OT.

3^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,90 du 13 janvier au 19 février. Le 31 mai: ganglion et sang, OT; bon état apparent.

OBSERVATION 127. — *Mbabi*. Reconnu trypanosomé le 23 août 1920 (ganglion, T.) Taille, 1 m. 51; poids, 41 kilogrammes; état général médiocre.

1^{re} série de traitement: 6 atoxyl à 0,70, 5 émétique à 0,05 du 23 août au 29 octobre. Le 15 juillet 1921: poids, 42 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 360 cellules, 0,60 d'albumine, OT; somnolence.

2^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,80 du 15 juillet au 16 août. Le 19 octobre: poids, 45 kilogrammes; ganglion et sang, OT; liquide céphalo-rachidien, 688 cellules, 0,50 d'albumine, OT; somnolence disparue.

3^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,60 du 19 octobre au 22 novembre. Le 24 janvier 1922: poids, 45 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 712 cellules, 0,80 d'albumine, T; démarche traînante.

4^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,60 du 24 janvier au 24 février. Le 31 mai: ganglion et sang, OT; même état.

OBSERVATION 128. — *Isébé itouli*. Reconnue trypanosomée le 1^{er} juin 1918 (ganglion, T). Taille, 1 m. 62; poids, 45 kilogrammes; en bon état apparent.

1^{re} série de traitement: 16 atoxyl à 0,60, 8 émétique à 0,05 du 1^{er} juin 1918 au 6 novembre 1920. Le 18 juin 1921: poids, 45 kilogrammes; sang, T.; liquide céphalo-rachidien, 64 cellules, 0,20 d'albumine, OT.

2^e série de traitement: 6 néo de 0,45 à 0,75, 5 émétique à 0,06 du 18 juin au 2 août. Le 17 septembre: poids, 40 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 140 cellules, 0,40 d'albumine, OT.

3^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,60 du 17 septembre au 18 octobre. Le 23 décembre: poids, 41 kilogrammes; liquide céphalo-rachidien, 65 cellules, 0,40 d'albumine, OT.

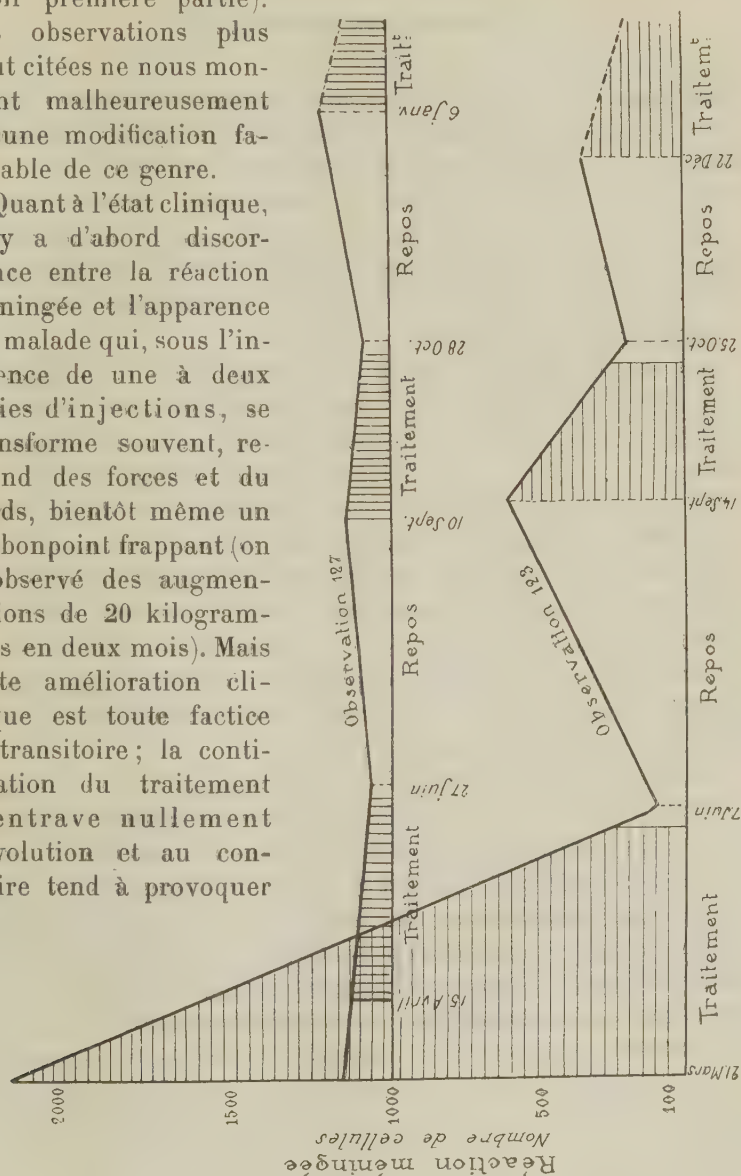
4^e série de traitement: 6 atoxyl à 0,60 du 23 décembre 1921 au 27 janvier 1922. Le 31 mai: poids, 45 kilogrammes; en bon état apparent.

Si l'on construit pour ces deux observations une courbe représentative en portant en ordonnées l'intensité de la réaction méningée traduite par le nombre de cellules et le temps en abscisses on obtient ainsi (voir la figure) une courbe d'amplitude décroissante. La solution du problème thérapeutique serait donc d'obtenir une courbe d'amplitude tendant vers zéro. Et encore faudrait-il que l'albuminose suivît la même courbe décroissante, car c'est elle qui, après tout, semble bien

être le facteur le plus important de la réaction méningée (Voir première partie).

Les observations plus haut citées ne nous montrent malheureusement aucune modification favorable de ce genre.

Quant à l'état clinique, il y a d'abord discordance entre la réaction méningée et l'apparence du malade qui, sous l'influence de une à deux séries d'injections, se transforme souvent, reprend des forces et du poids, bientôt même un embonpoint frappant (on a observé des augmentations de 20 kilogrammes en deux mois). Mais cette amélioration clinique est toute factice et transitoire; la continuation du traitement n'entrave nullement l'évolution et au contraire tend à provoquer



des troubles oculaires et à faire progresser la maladie plus rapidement vers une issue fatale.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Existe-t-il une thérapeutique chimique de la deuxième période de la maladie du sommeil? Les données exposées tendent à répondre par la négative avec l'emploi de l'atoxyl.

L'application des principes fondamentaux d'un traitement actif, diminution de la réaction méningée sous l'influence des injections d'atoxyl, puis augmentation de celle-ci, conduit à des résultats déplorables, production de troubles oculaires, accélération de l'évolution.

Ces conséquences sont-elles seulement dues à l'emploi de l'atoxyl? Pour notre part, l'expérimentation avec le néosalvarsan et celle plus récente avec l'acide oxyaminophénylar-sinique ou « 189 » ne sont guère plus encourageantes.

En se servant de l'arsenic chez les malades du sommeil deuxième période, aux doses trypanolytiques, on manie une arme à double tranchant; l'arsenic est non seulement un poison pour les trypanosomes, mais aussi pour le système nerveux; et celui-ci étant déjà lésé, le « neurotropisme » de l'arsenic paraît dépasser son « parasitropisme »; il semble donc que la médication arsenicale active doive être éliminée du domaine thérapeutique de la deuxième période.

Ainsi la méningo-encéphalite trypanosomiasique ne fait point exception dans le groupe des méningo-encéphalites chroniques et il est intéressant de constater que dans le domaine des parasymphilis et surtout de la paralysie générale progressive, après avoir fondé de belles espérances de guérison par les arsenicaux organiques, on a été complètement déçu. Pour le seul fait de la paralysie générale, les avis sont presque unanimes (1): les arsénobenzols aux doses habituelles employées en syphilis n'enrayent nullement l'évolution et au contraire provoquent l'aggravation de la maladie. Ce qui est vrai pour la méningo-encéphalite diffuse progressive l'est aussi pour la méningo-encéphalite

(1) Traitement de la syphilis en clientèle de Gougerot. *C. R. de la Soc. de Méd. de Bordeaux*, 27 mai 1921 (discussion sur le traitement de la paralysie générale). *Traité de Pathologie et de Thérapeutique appliquée* de Sergent, 19. Syphilis.

trypanosomiasique et notre expérimentation précise ne peut que renforcer le jugement des neurologistes.

En l'état présent de nos connaissances, le traitement de la deuxième période est encore à trouver, la thérapeutique intrarachidienne a fait faillite (1) et la question demeure entière, dùt-on même arriver à imprégner plus intensément les centres nerveux d'arsenic au moyen de procédés tels que celui du drainage spinal sans ponction lombaire des auteurs américains (2).

Le seul traitement actuel est un traitement prophylactique et symptomatique. Il suffit de stériliser la circulation périphérique des trypanosomes par quelques injections d'atoxyl à doses fortes et ensuite de faire une médication symptomatique en utilisant par exemple les propriétés toniques de l'atoxyl aux très faibles doses de 0,10 à 0,20, en ayant soin de surveiller la stérilisation périphérique.

Cette opinion est aussi celle de Broden et Rodhain (3) qui concluent à l'échec de tout traitement à la deuxième période et conseillent quelques rares doses de 1 gramme d'atoxyl dans le seul but de maintenir la circulation périphérique stérilisée.

La seule cure de la deuxième période est d'empêcher qu'elle se produise en traitant les trypanosomes d'une façon précoce et énergique, ce à quoi vise notre méthode de traitement à la première période.

(1) LEPROU et OUZILLEAU, La thérapeutique intrarachidienne dans la maladie du sommeil. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, 1922, p. 60.

(2) CORBUS, O'CONNOR, LINCOLN et GARDNER, Spinal drainage without lumbar puncture, *Journ. of the Amer. Med. Assoc.*, 28 janvier 1922, au moyen d'injections intraveineuses de 100 cent. cubes de solution salée à 15 p. 100. A Brazzaville, nombreux ont été les malades qui ont reçu des injections d'atoxyl consécutives à la ponction lombaire qui avait fortement abaissé la tension du liquide céphalo-rachidien. Les effets n'ont pas été meilleurs.

(3) BRODEN et RODHAIN, L'atoxyl dans le traitement de la trypanose humaine. *Annales Soc. belge de Méd. tropicale*, 2, 1921, p. 60.

ÉTUDES SUR LE STREPTOCOQUE GOURMEUX

(DEUXIÈME MÉMOIRE)

par M. BROCOU-ROUSSEU, FORGEOT et A. URBAIN.

PASSAGES PAR LES ANIMAUX ET DANS DIFFÉRENTS MILIEUX

Marmorek (1), Aronson (2), Neufeld (3), se basant sur la propriété que possèdent leurs sérums, préparés avec un seul streptocoque, de protéger contre tous les streptocoques, celui de la gourme du cheval excepté, admettaient que le streptocoque humain était unique de son espèce.

Méry (4), Courmont (5) contestèrent cette manière de voir.

Besredka (6) montra que le streptocoque ayant passé par la souris un certain nombre de fois, en vue de l'exaltation de sa virulence, devient un streptocoque de la souris; c'est-à-dire qu'il perd ses caractères d'origine et se transforme en une nouvelle variété que cet auteur a désigné sous le nom de « *streptocoque de passage* ». Si bien que le sérum monovalent obtenu avec ce dernier se montre actif vis-à-vis de streptocoques d'origine humaine uniquement parce que ceux-ci avaient été préalablement, suivant l'expression de Besredka, « *uniformisés artificiellement par des passages de souris à souris* ».

« Et cela est si vrai, fait remarquer Besredka, que lorsque cet expérimentateur (Aronson) s'adressa à un streptocoque qui est d'emblée pathogène pour la souris, comme c'est le cas du microbe de la gourme, le sérum n'eut pas d'action sur lui. Par contre, quand le même microbe eut fait plusieurs passages par la souris, et que sa virulence se trouva de la sorte

(1) MARMOREK. *Ces Annales*, 1902, p. 172; 1903, p. 593.

(2) ARONSON. *Berl. klin. Woch.*, 1902, p. 976-1006; *Deutsche med. Woch.*, 1903.

(3) NEUFELD. *Zeits. f. Hyg.*, 1903, p. 161.

(4) MÉRY. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1896.

(5) J. COURMONT. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1898.

(6) BESREDKA. *Ces Annales*, 1904, p. 362; *Médicaments microbiens*, 1912, p. 267.

beaucoup plus exaltée, ce même sérum, d'inactif devint actif. »

Cette manière de voir paraît être généralement admise : un streptocoque d'origine connue perd son individualité par suite de passages successifs chez la souris, et il se trouve dès lors transformé en streptocoque de passage.

Dans le présent travail, nous avons essayé d'apporter des arguments d'un autre ordre à l'appui de cette conception. Le problème que nous nous sommes posé a été le suivant : un streptocoque gourmeux dont le pouvoir antigène vis-à-vis des anticorps d'un sérum antigourmeux est connu, perd-il cette propriété par suite de passages successifs, d'une part, dans l'organisme d'animaux de laboratoire, et, de l'autre, *in vitro*, dans certains milieux de culture ?

Ainsi que nous l'avons précédemment démontré (1), les streptocoques gourmeux ont pour corollaires, en effet, des anticorps spécifiques. Si, du fait des premiers passages dans l'organisme d'animaux autres que le cheval, ou dans certains milieux *in vitro*, ces streptocoques perdent leur caractère initial, et y prennent une individualité nouvelle, ils ne doivent plus être capables de fixer l'alexine en présence de la sensibilisatrice du sérum antigourmeux.

Nous avons utilisé, pour nos recherches, un sérum antigourmeux titrant, par la méthode de Calmette et Massol, 4.500 unités d'anticorps. L'antigène employé a consisté en une émulsion de streptocoques tués par l'alcool-éther, à raison de 1 centigr. de corps microbiens pour 20 centimètres d'eau physiologique à 9 p. 4.000.

Nous allons passer en revue les modifications apportées chez diverses souches de streptocoques gourmeux par leurs passages successifs dans l'organisme de certains animaux, et celles obtenues par passages dans divers milieux de culture.

1° Passages chez les animaux.

La technique que nous avons employée a été sensiblement la même dans tous les cas. Seule la voie d'introduction du germe a varié suivant l'animal : voie sous-cutanée pour la

(1) BROCC-ROUSSEU, FORGEOT et A. URBAIN. Ces *Annales*, septembre 1922, p. 646.

souris, pleurale pour le rat, intrapéritonéale pour le cobaye; intraveineuse ou péritonéale pour le lapin.

Dès la mort de l'animal, on puisait aseptiquement du sang du cœur, qui était immédiatement ensemencé dans du bouillon-sérum. La valeur antigène de la culture obtenue était ensuite recherchée de la façon habituelle vis-à-vis du sérum anti-gourmeux.

Voici, par espèce animale, les résultats que nous avons obtenus :

A. SOURIS. — La quantité de culture injectée a varié suivant le streptocoque utilisé, du millième au vingtième de cent. cube de culture de vingt-quatre heures en bouillon-sérum; la mort était obtenue, en moyenne, en trois jours.

Le tableau ci-dessous résume, par souches étudiées et en unités d'anticorps, les résultats des expériences :

	376	A. 1109	DÉLICIEUSE	B. H. 542	CARPANO	FILEUSE
	Unités	Unités	Unités	Unités	Unités	Unités
1 ^{er} passage.	500	500	500	500	500	500
2 ^e —	300	150	300	300	300	75
3 ^e —	50	30	50	50	50	10
4 ^e —	0	0	5	0	10	0
5 ^e —	»	»	0	»	0	»

B. RAT. — Ayant constaté au cours de nos recherches que le sérum de cheval était toxique pour le rat blanc, nous avons abandonné, pour cet animal, le bouillon-sérum, pour n'utiliser que les cultures sur gélose de vingt-quatre heures. La mort était obtenue avec un quart ou une demi-culture, en douze

	CARPANO	A. 1109	DÉLICIEUSE	BOUCHET 2	CAEN	S ^t -VARENT
	Unités	Unités	Unités	Unités	Unités	Unités
1 ^{er} passage.	150	150	150	150	150	150
2 ^e —	150	50	150	25	150	50
3 ^e —	100	10	50	5	50	5
4 ^e —	50	0	10	5	10	0
5 ^e —	10	»	5	0	0	»
6 ^e —	0	»	0	»	»	»

heures, quelquefois en vingt-quatre heures, et, exceptionnellement, en quarante-huit heures.

C. LAPIN. — Nous n'avons trouvé que deux streptocoques capables de tuer le lapin, l'un par voie veineuse, l'autre par voie péritonéale. Dans le premier cas, la quantité de germes inoculés a été de 1 cent. cube de culture de vingt-quatre heures en bouillon-sérum; la mort se produisait en deux jours.

Par voie péritonéale on utilisait, en moyenne, 2 cent. cubes de culture, et l'animal succombait en douze heures.

	CARPANO Voie intraveineuse mort en 2 jours	INFUTABLE Voie péritonéale mort en 12 heures.
	Unités	Unités
1 ^{er} passage.	150	300
2 ^e —	50	300
3 ^e —	50	200
4 ^e —	0	75
5 ^e —	»	20
6 ^e —	»	15
7 ^e —	»	15
8 ^e —	»	15
9 ^e —	»	0

D. COBAYE. — De même que pour le lapin, nous n'avons rencontré, dans toute la série des streptocoques gourmeux que

	CARPANO Voie péritonéale mort en 2-3 jours	INFUTABLE Voie péritonéale mort en 12 heures
	Unités	Unités
1 ^{er} passage.	1.500	1.200
2 ^e —	150	1.000
3 ^e —	100	500
4 ^e —	50	500
5 ^e —	0	300
6 ^e —	»	100
7 ^e —	»	50
8 ^e —	»	25
9 ^e —	»	0

nous possédons, que deux d'entre eux capables de tuer le cobaye par la voie péritonéale : la souche « Carpano » en deux, trois jours à la dose de 3 ou 4 cent. cubes de culture ; et la souche « Infutable », en douze heures, à la dose de 1 cent. cube de culture en bouillon-sérum.

En résumé, le streptocoque gourmeux, par passages successifs chez les animaux, perd sa propriété de fixer l'alexine en présence de la sensibilisatrice du sérum antigourmeux ; il acquiert une individualité nouvelle ; il devient un streptocoque de passage.

Le nombre des passages pour obtenir cette transformation est fonction de la résistance de l'animal à l'infection, ainsi qu'il ressort de la lecture des résultats obtenus ; plus la mort se produit tardivement, plus vite le streptocoque s'adapte au nouvel organisme qui l'héberge, et plus vite il perd son caractère équin pour devenir streptocoque de la souris, du rat, du lapin ou du cobaye.

2° Passages par les milieux de culture.

Nous avons constaté que, pour un animal déterminé, on pouvait exalter la virulence de certains streptocoques gourmeux, par des cultures successives de vingt-quatre à quarante-huit heures, dans du bouillon Martin additionné d'une certaine quantité du sang de cet animal. Nous nous sommes alors demandé si, à cette augmentation de virulence, ne correspondait pas une modification de la valeur antigène du streptocoque.

Nous nous sommes servis d'hématies de cobaye et de lapin, recueillies purement et réparties à raison de 1 cent. cube pour 4 cent. cubes de bouillon Martin. Dans ces milieux, le streptocoque a fréquemment un aspect morphologique différent de celui qu'il possède en bouillon-sérum. Au lieu d'être en chaînettes plus ou moins longues, il se présente sous forme de diplocoques ou en très courtes chaînes ; souvent même une capsule l'entoure. Dans quelques cas, il a un aspect granuleux, et prend mal le Gram. Souvent, enfin, les streptocoques sont intraglobulaires.

En dehors de ces milieux au sang, nous avons employé du

bouillon de viande de lapin et de cobaye, préparés suivant la méthode habituelle.

E. MILIEUX AU SANG DE COBAYE OU DE LAPIN. — Nous avons utilisé, pour cette expérience, six souches de streptocoques gourmeux. Après vingt-quatre heures de culture, ils étaient examinés et ensemencés dans le milieu sang, et leur valeur antigène était recherchée après 5, 10, 15 passages et parfois plus, dans ces milieux.

Voici les résultats obtenus :

Sang. Cobaye.

	376	SÉGALA 2	SAUTEUR MACON	PASSE PAR LA	A. 1179	ÉCLAIREUR
	Unités	Unités	Unités	Unités	Unités	Unités
1 ^{er} passage.	1.400	1.200	1.200	1.400	1.200	1.200
5 ^e —	500	500	500	1.000	500	1.000
10 ^e —	0	0	0	200	25	200
15 ^e —	»	»	»	50	0	0
17 ^e —	»	»	»	0	»	»

Sang. Lapin.

	376	SÉGALA 2	SAUTEUR MACON	PASSE PAR LA	A. 1179	ÉCLAIREUR
	Unités	Unités	Unités	Unités	Unités	Unités
1 ^{er} passage.	1.400	1.200	1.200	1.400	1.200	1.200
5 ^e —	700	300	300	500	1.000	500
10 ^e —	400	50	50	0	200	50
15 ^e —	0	5	0	»	25	50
17 ^e —	»	0	»	»	0	5
18 ^e —	»	»	»	»	»	0

La lecture des tableaux ci-dessus fait ressortir des différences assez importantes dans le nombre des passages nécessaires à certains streptocoques pour modifier leurs caractères. Elles sont dues à ce que nous avons été obligés de procéder, dans quelques cas, à des repiquages sur gélose pour séparer les streptocoques de germes étrangers qui, malgré les précautions prises, sont venus souiller nos cultures. Cet inconvénient

est très difficile à éviter avec des milieux non chauffés, le sang normal pouvant contenir des germes qu'un séjour de vingt-quatre heures à l'étuve ne décèle pas toujours. Il n'y a donc pas eu, pour ces streptocoques, une seule série de passages continus, mais des interruptions de vingt-quatre ou quarante-huit heures, nécessitées par l'isolement du streptocoque.

Lorsque la continuité a pu être assurée en une seule série, le streptocoque était le plus souvent modifié vers le dixième passage.

F. MILIEUX A LA VIANDE DE LAPIN OU DE COBAYE. — Dans ces milieux, le streptocoque vit assez mal; nos cultures ont toujours été peu abondantes. On ne constate aucune des modifications morphologiques rappelant celles obtenues dans les milieux au sang. Le pouvoir antigène des streptocoques gourmeux, après une longue série de passages (25-30), y est resté invariable.

CONCLUSIONS

1° Par passages chez différents animaux de laboratoire, le streptocoque gourmeux perd la propriété de fixer l'alexine, en présence des anticorps d'un sérum antigourmeux. Ce streptocoque, en s'adaptant au nouvel organisme qui l'héberge, acquiert donc des propriétés nouvelles : il se transforme en un *streptocoque de passage*.

2° La rapidité de cette transformation est fonction de la résistance de l'animal à l'infection. Elle se produit aisément en cas de mort tardive; elle est plus lente quand l'animal meurt rapidement.

3° Dans les milieux faits avec du sang de cobaye ou de lapin, le streptocoque gourmeux subit les mêmes modifications que par passage chez les animaux. Cependant, la transformation est plus lente et semble marcher parallèlement à des variations morphologiques du germe.

(Institut Pasteur et Laboratoire militaire de recherches vétérinaires.)

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.